

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. J. Deckert

Serotonin Transporter Polymorphismen im VITA-Projekt

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der
Medizinischen Fakultät
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von
Iva Christiane Löffler
aus Freiburg im Breisgau

Würzburg, März 2011

Referent: Frau Priv.-Doz. Dr. Edna Grünblatt

Korreferent: Herr Prof. Dr. Andreas Reif

Dekan: Herr Prof. Dr. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 23.11.2011

Die Promovendin ist Ärztin.

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Demographische Entwicklung	1
1.2 Depressionen und Demenzerkrankungen im Alter	2
1.2.1 Depressionen	2
1.2.1.1 Einteilungen der Depressionen	2
1.2.1.2 Epidemiologien der Depressionen	4
1.2.1.3 Ätiologie und Pathogenese der Depressionen	5
1.2.2 Demenzerkrankungen	6
1.2.2.1 Einteilungen der Demenzerkrankungen	6
1.2.2.2 Epidemiologien der Demenzerkrankungen	7
1.2.2.3 Ätiologie und Pathogenese der Demenzerkrankungen	8
1.3 Das serotonerge System	10
1.3.1 Der Serotonintransporter und sein Polymorphismus	14
1.4 Die Vienna Transdanube Aging Studie (VITA-Studie)	16
1.5 Zielsetzung	17
2. Material und Methoden	18
2.1 Material	18
2.1.1 Material für die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	18
2.1.2 Geräte	18
2.1.3 Verbrauchsmaterial	19
2.1.4 Puffer und Lösungen	19
2.1.5 Material für die elektrophoretische Auftrennung	21
2.2 Probandenrekrutierung	21
2.2.1 Probanden	21
2.2.1.1 Neuropsychologische Tests	21
2.2.1.2 Probandengruppen	23
2.3 Methoden	27
2.3.1 Polymerase-Kettenreaktion	27
2.3.2 Genotypisierung	27
2.3.3 Agarose-Elektrophorese	29

2.3.4 Statistische Auswertung	31
3. Ergebnisse	32
3.1 Der 5-HTTLPR bei Probanden mit einer Depression bei Befunderhebung und/oder in der Vergangenheit	32
3.2 Der 5-HTTLPR-Polymorphismus bei Probanden mit einer Demenz-Erkrankung	34
4. Diskussion	39
4.1 Der 5-HTTLPR bei depressiven Probanden	39
4.2 Der 5-HTTLPR bei dementen Probanden	42
5. Ausblick	44
6. Zusammenfassung	45
7. Anhang	47
7.1 Abkürzungsverzeichnis	47
7.2 Abbildungsverzeichnis	48
7.3 Tabellenverzeichnis	49
8. Literaturverzeichnis	50
Danksagung	
Lebenslauf	
Publikationsverzeichnis	

1. Einleitung

1.1 Die Demographische Entwicklung

Im Verlaufe des 20. Jahrhunderts hat sich die Altersstruktur der Bevölkerung tiefgreifend verändert. Im Jahr 2050 wird - nach der neuesten Bevölkerungsvorausberechnung des Statistischen Bundesamtes - die Hälfte der Bevölkerung älter als 48 Jahre und ein Drittel 60 Jahre oder älter sein (Statistisches Bundesamt 2003, siehe Abb.1). Diese „Demographische Alterung“ beruht auf einer Steigerung der Lebenserwartung durch eine Verbesserung der allgemeinen Gesundheit und Fortschritte in der Nahrungsmittel- und Wasserversorgung sowie auf einer abnehmenden Geburtenrate pro Frau.

Die Verschiebung der Altersstruktur stellt nicht nur die sozialen Sicherungssysteme, sondern auch das Gesundheitswesen vor Probleme. Die Lebenserwartung steigt zwar durch eine verbesserte Gesundheitsversorgung an, allerdings unterliegen ältere Menschen auch einem erhöhten Krankheitsrisiko. Sie leiden oft an chronischen Krankheiten wie z. B. Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Diabetes oder Erkrankungen des Bewegungsapparates. Aber auch psychische Störungen wie Depressionen und Demenzen nehmen im hohen Alter an Bedeutung zu, werden aber in ihrer Häufigkeit und Schwere nicht immer ausreichend Rechnung getragen. Vor allem die Demenzerkrankungen werden immer noch allzu schnell als typische altersbedingte Erscheinungen abgetan und zum Tabu erklärt. Der Volksmund spricht von "Verkalkung" oder "Verrücktheit" wenn die Psyche im Alter krank ist. Manchmal werden diese Krankheiten auch einfach nicht oder zu spät erkannt, weil die typischen Warnsignale nicht richtig gedeutet werden. Viele Patientinnen und Patienten erhalten dadurch nie eine fachgerechte Behandlung.

Die Veränderung der demographischen Entwicklung fordert also nicht nur einen Ausbau der Altersforschung, sondern auch neue soziale und medizinische Maßnahmen, die es älteren Menschen ermöglichen, ein menschenwürdiges Leben zu führen.

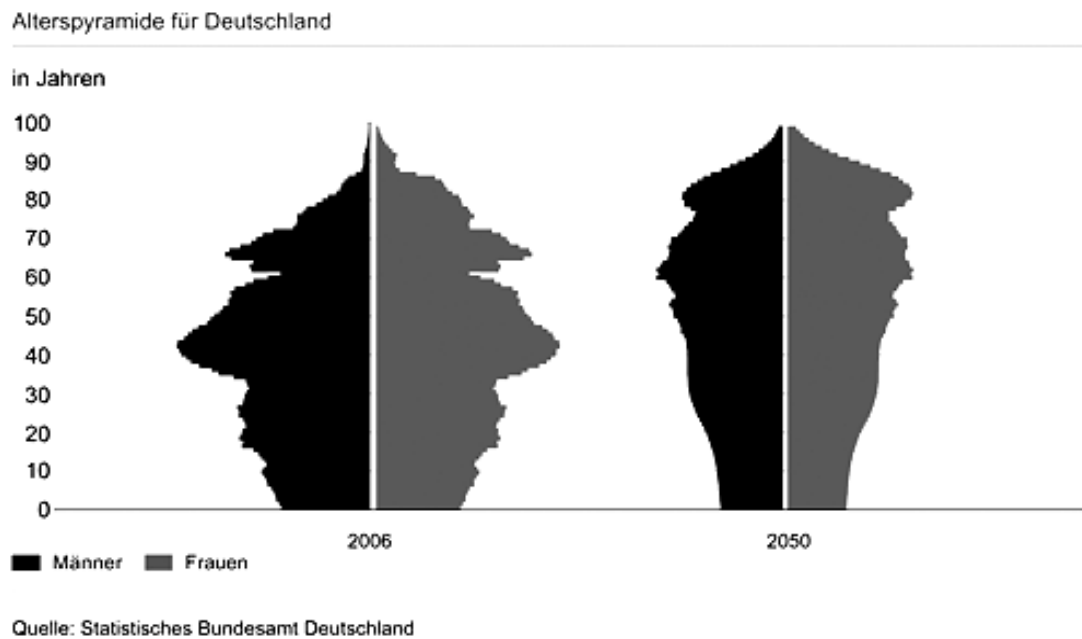


Abb.1: Alterspyramide für Deutschland 2006 und 2050 im Vergleich (Statistisches Bundesamt Deutschland 2003)

1.2 Depressionen und Demenzerkrankungen im Alter

1.2.1 Depressionen

1.2.1.1 Einteilungen der Depressionen

Die heutigen nach DSM-IV (Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen und ICD-10 (*International classification of diseases*) gebräuchlichen Einteilungen ordnen die Depression den affektiven Störungen unter. Unter affektiven Störungen versteht man eine Gruppe von Erkrankungen, bei denen eine Störung des Gefühls- und Gemütsleben vorliegt. Dazu zählen die Depression, die Manie, die manisch-depressive Erkrankung, die Dysthymie und die Zykllothymie. Bei einer Depression leidet der Betroffene unter einer gedrückten Stimmung und unter einer Verminderung von Aktivität und Antrieb. Die Manie hingegen ist durch einen ungewöhnlich gesteigerten Affekt gekennzeichnet ist. Wiederholen sich nun bei einem chronischen Verlauf die Phasen des gleichen Krankheitsbildes, spricht man von einer

monopolaren Form. Bei einer bipolaren Ausprägung wechseln sich die Phasen der Depression mit der Phase der Manie ab. Halten nun die Symptome einer depressiven Verstimmung über mindestens zwei Jahre an, spricht man von einer Dysthymie. Bei der Diagnose Zykllothymie hingegen kommt es zu einem zyklischen Wechsel von depressiver und gehobener Stimmung. Die einzelnen Phasen entsprechen aber nicht einer depressiven Episode oder Manie, die bei einer bipolaren Störung zu finden sind.

Die ICD-10 Klassifikation unterteilt die Depressionen nicht mehr in endogene, somatogene oder psychotische Depressionen, sondern orientiert sich nach der Art und Anzahl der Symptome, dem Verlauf und dem Vorliegen weiterer Probleme. Man spricht von einer *leichten depressiven Episode*, wenn mindestens zwei Hauptsymptome und zwei Zusatzsymptome auftreten. Tabelle 1 beschreibt die Haupt- und Zusatzsymptome depressiver Episoden nach der ICD-10 Klassifikation. Zu den Hauptsymptomen gehören eine gedrückte Stimmung, Freudlosigkeit oder eine Antriebsstörung. Mangelnde Gefühlsbeteiligung, verminderte Konzentration, eine negative Zukunftsperspektive, Suizidgedanken oder Suizidhandlungen, Reduktion von Selbstwertgefühl und Selbstvertrauen sowie Schuldgefühle, Schlafstörungen und Appetitverminderung werden zu den Zusatzsymptomen gezählt. Bei einer mittelgradig depressiven Phase liegen zwei Hauptsymptome und mindestens drei, höchstens aber vier weitere Symptome vor. Die Diagnose einer schweren depressiven Episode wird gestellt, wenn alle drei Hauptsymptome und mindestens vier zusätzliche Symptome vorhanden sind. Außerdem müssen die Beschwerden mindestens über zwei Wochen anhalten.

Die Unterscheidung zwischen einer Major- und Minor-Depression gemäß DSM-IV wird hauptsächlich im amerikanischen Sprachgebrauch angewandt. Während die Major-Depression einer schweren depressiven Episode in der ICD-10 Klassifikation entspricht, spricht man bei einer Minor-Depression von einer leichten depressiven Episode. Der Begriff der Minor-Depression wird aber in der aktuellen DSM-IV-Auflage nicht mehr aufgeführt.

Hauptsymptome	Zusatzsymptome
Gedrückte Stimmung	Verminderte Konzentration
Interessenverlust, Freudlosigkeit	Vermindertes Selbstwertgefühl
Antriebsmangel, erhöhte Ermüdbarkeit	Gefühl von Schuld
	Negative Zukunftsperspektive
	Suizidgedanken oder Suizidhandlungen
	Schlafstörungen
	Verminderter Appetit

Tab.1: Hauptsymptome und Zusatzsymptome depressiver Episoden nach ICD-10

1.2.1.2 Epidemiologien der Depressionen

Depressionen im hohen Alter weisen in der Literatur oft Prävalenzzahlen mit erheblichen Schwankungen und Unterschiede auf. Sie reichen von 8.7% (McDougall, Kvaal et al. 2007), 12.3% (Copeland, Beekman et al. 2004) bis zu 26.8 % (Linden, Kurtz et al. 1998) bzw. 31.1% (Van't Veer-Tazelaar, van Marwijk et al. 2007). Studien, die auf Symptomskalen basieren, berichten oft über höhere Prävalenzen als Studien, die diagnostische Kriterien der modernen Klassifikationssysteme zugrunde legen (Madianos, Gournas et al. 1992). Die Prävalenzzahlen von Depressionen älterer Menschen sind auch oft abhängig von äußeren Faktoren. Zu diesen Faktoren gehört u.a die Wohnsituation der jeweiligen Person. Die Literatur zeigt in verschiedenen Studien, dass Menschen in Altersheimen wesentlich häufiger an einer Depression leiden, als Personen, die noch in ihrem eigenen Haushalt leben (Meller, Fichter et al. 1997; McDougall, Matthews et al. 2007).

Die Geschlechtsverteilung in den meisten Studien zeigt eine höhere Prävalenzrate für Depressionen bei Frauen als bei Männern (Copeland, Beekman et al. 2004; McDougall, Kvaal et al. 2007).

Bezüglich der Inzidenz der Depressionen im höheren Alter, liegen keine schlüssigen Daten vor. In der Berliner Altersstudie (BASE) ist die Anzahl der Neuerkrankten für die Altersgruppe der 70- bis über 100-Jährigen nicht vom Alter abhängig. Die Inzidenz der

Depressionen nimmt im hohen Alter nicht zu (Linden, Kurtz et al. 1998). Andere Studien widerlegen wiederum dieses Ergebnis (Copeland, Beekman et al. 2004; Urbina Torija, Flores Mayor et al. 2007; Van't Veer-Tazelaar, van Marwijk et al. 2007). Sie geben an, dass Depressionen im Alter zunehmen. Diese Beobachtung korreliert aber nicht mit dem Alter selbst, sondern mit den Risikofaktoren, die das Alter mit sich bringt. Zu diesen Risikofaktoren gehören kognitive, körperliche und soziale Einschränkungen, welche das Auftreten von Depressionen mit dem Alter begünstigen.

1.2.1.3 Ätiologie und Pathogenese der Depressionen

Heutzutage gibt es verschiedene Modelle, die zu erklären versuchen, weshalb eine Depression entsteht. Die „Serotonin-Hypothese“ von Coopen (Coppin 1967) postulierte erstmals eine Beteiligung eines Mangels an Neurotransmitter an der Entstehung endogener Depressionen und Manien. Diese Hypothese wird durch verschiedene Studien gestützt. Forscher fanden im Liquor depressiver Patienten eine verringerte Konzentration von 5-Hydroxytryptamin (5-HT) (Asberg, Traskman et al. 1976). Auch eine verminderte Aufnahme von 5-HT in Thrombozyten depressiver Patienten (Tuomisto, Tukiainen et al. 1979) und eine Reduktion der Serotonin-Konzentration in post mortem Hirngewebe depressiver Patienten (Owens and Nemeroff 1994) bestätigten die „Neurotransmitter-Mangelhypothese“. Durch Pharmaka, die die 5-HT-Aufnahme inhibieren, kann ein Ausgleich des Serotonin-Mangels geschaffen werden (Owens and Nemeroff 1994).

Ein weiteres Modell geht davon aus, dass der Depression eine Störung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achsenaktivierung (HHNR-Achse) zu Grunde liegt (Thomson and Craighead 2007). Untersuchungen haben gezeigt, dass bei depressiven Personen erhöhte Cortisol-Spiegel gefunden wurden, die zu einer Dysfunktion der Glukokortikoid-, *Corticotropin releasing factor (CRF)*- und Arginin-/Vasopressin-Rezeptoren führten (Thomson and Craighead 2007).

Eine weitere Erklärung für die Entstehung einer Depression könnte in der neuroadaptiven Veränderung durch Hochregulation serotonerger Rezeptoren gefunden werden. Eine Behandlung mit trizyklischen Antidepressiva wie dem Imipram (Klasse der Dibenzazepine) zeigt, dass durch die erhöhte Serotonin-Konzentration wieder eine Herunterregulation der Rezeptoren erreicht wird (Gomez-Gil, Gasto et al. 2004).

In verschiedenen Studien wird auch die Assoziation des Serotonin-Transporter-Promoter-Polymorphismus (5-HTTLPR) mit der Depression und Ängstlichkeit in Verbindung gebracht (Lesch, Bengel et al. 1996; Lenze, Munin et al. 2005; Grunblatt, Loffler et al. 2006; Zalsman, Huang et al. 2006). Das Serotonin-Transporter-Gen weist in der Promoter-Region beim Menschen einen Längenpolymorphismus auf, der die Funktionalität des Transporters entscheidend beeinflusst. Der Polymorphismus hat seine Ausprägung in einer langen (L) und einer kurzen (S) Allelform. Probanden mit einer Depression oder Ängstlichkeit als Persönlichkeitsmerkmal weisen in den oben genannten Studien signifikant häufiger einen S/S oder S/L Genotyp für den 5-HTTLPR auf. Dem S-Allel des Serotonin-Transporter-Promoter-Polymorphismus wird in dieser Literatur eine bedeutende Rolle bei der Entstehung von Depressionen und Ängstlichkeit zugeordnet.

1.2.2 Demenzerkrankungen

1.2.2.1 Einteilungen der Demenzerkrankungen

Die Demenzerkrankungen werden nach dem Klassifikationssystem ICD-10 zu den organisch psychischen Störungen ersten Ranges gezählt. Dabei handelt es sich um Störungen, deren Symptome recht zuverlässig auf eine organische psychische Störung schließen lassen. Im Gegensatz dazu können die organisch psychischen Störungen zweiten Ranges nicht anhand ihrer Symptome als organisch erkannt werden.

Unter ätiologischen Gesichtspunkten werden die Demenzerkrankungen in primäre und sekundäre Demenzen eingeteilt. Zu den primären Demenzformen gehören die Alzheimer Demenz (DAT), die vaskuläre Demenz, Morbus Pick, Demenz bei Chorea

Huntington und Morbus Parkinson, die Lewy Body Demenz und die Demenz bei der Creutzfeld-Jakob-Krankheit. Die Alzheimer'sche Krankheit macht von allen Demenzformen den größten Anteil aus (Ott, Breteler et al. 1995; Ruitenberg, Ott et al. 2001). Die vaskuläre Demenz ist die zweithäufigste Form im höheren Lebensalter.

Während die primären Demenzen durch intrazerebrale Erkrankungen oder Verletzungen verursacht werden, sind sekundäre Demenzen organisch psychische Störungen, die durch extrazerebrale Erkrankungen wie zum Beispiel metabolische Störungen, chronische Intoxikation, Infektionen oder Vitaminmangelkrankheiten hervorgerufen werden und zu Hirnfunktionsstörungen führen.

1.2.2.2 Epidemiologien der Demenzerkrankungen

Es wird geschätzt, dass heutzutage etwa 24 Millionen Menschen auf der Welt an einer Demenz leiden und dass sich diese Zahl jede 20 Jahre verdoppeln wird (Qiu, De Ronchi et al. 2007). Die Prävalenzrate von Demenzen steigt beträchtlich mit dem Lebensalter (siehe Tab.2). Während in der Altersgruppe der 60-64 Jährigen die Prävalenzrate 1% beträgt, steigt sie auf mehr als 30% bei den über 90-Jährigen an (Hofman, Rocca et al.1991).

Prävalenzrate von Demenzen		
Altersgruppen	Hofman, Rocca et al.1991	Plassman, Langa et al. 2007
	60-64 Jahre 1,0 %	71-79 Jahre 5,0%
	65-69 Jahre 1,4 %	90-Jährige 37,4%
	70-74 Jahre 4,1 %	
	75-79 Jahre 5,7 %	
	80-84 Jahre 13,0 %	
	85-89 Jahre 21,0 %	
	90-94 Jahre 32,2 %	

Tab.2:Prävalenzrate von Demenzen

Die aufgeführten Inzidenzraten in verschiedenen Studien zeigen ein jährliches Neuerkrankungsrisiko von 2,8% bei den über 65-69 Jährigen (Kukull, Higdon et al. 2002) bis zu 86,7 % bei den Über-90-Jährigen (Fratiglioni, Viitanen et al. 1997).

Bei der Untersuchung der Geschlechtsunterschiede in der altersspezifischen Inzidenz von Demenzerkrankungen wurden im allgemeinen keine Unterschiede berichtet (Ott, Breteler et al. 1998; Andersen, Launer et al. 1999). Nur bei den über 90-Jährigen weisen die Frauen aufgrund ihrer höheren Lebenserwartung höhere Inzidenzraten auf als die Männer (Ott, Breteler et al. 1998; Andersen, Launer et al. 1999; Letenneur, Gilleron et al. 1999; Ruitenberg, Ott et al. 2001).

1.2.2.3 Ätiologie und Pathogenese der Demenzerkrankungen

Die Entstehung der Demenzerkrankungen lässt bis heute noch viele Fragen offen. Während vaskuläre Demenzen durch Gefäßwunderkrankungen oder thrombotisch/embolische Verschlüsse verursacht werden können, ist die Ätiologie der Frontotemporalen und der Alzheimer Demenz noch unklar. Bei Probanden mit einer Frontotemporalen Demenz wurde jedoch erst kürzlich von Cruts et al. entdeckt, dass der Progranulin-Wachstumsfaktor eine wichtige Rolle bei der Entwicklung dieser Form der Demenz spielen könnte.(Cruts, Gijssels et al. 2006).

Für die Entstehung der Alzheimer Demenz existieren mehrere Hypothesen. Einige Wissenschaftler betrachten senile Plaques aus Amyloidablagerungen als Ursache für die Entstehung der DAT (Selkoe 1994; Neve and Robakis 1998). Diese Ablagerungen setzen sich aus proteolytischen Abbauprodukten des Amyloidvorläuferproteins zusammen und haben neurotoxische Wirkungen auf Nervenzellen und Nervenzellfortsätze. Das zweite Merkmal der Alzheimer-Pathologie sind Neurofibrillenbündel (Iqbal, Alonso et al. 1998; Spillantini and Goedert 1998). Sie befinden sich innerhalb der Nervenzellen und bestehen aus Neurofilamenten, die sich aus hyperphosphoryliertem Tau-Protein zusammensetzen. Diese Hyperphosphorylierung führt dazu, dass das Tau-Protein seine Stützfunktion der Mikrotubuli verliert und somit der axonale Transport blockiert wird.

Weitere Forscher verfolgen die immunologische Hypothese (McGeer and McGeer 1995), die proinflammatorische Faktoren wie Interleukine oder Zytokine an der Ätiologie der Alzheimer Demenz beteiligt sieht. Diese Hypothese wird unterstützt durch Untersuchungen, die ein verzögertes Auftreten von Alzheimer durch die Behandlung mit Glucocorticoiden und Nicht-steroidalen Antirheumatika aufzeigen (in t' Veld, Ruitenbergh et al. 2001).

Die genetische Hypothese beschreibt das Apolipoprotein-E (ApoE) als Risikofaktor für die Alzheimer Demenz (Roses and Saunders 1997). Das ApoE ist ein Lipoprotein, das neben Cholesterin auch Amyloid bindet. Es existieren drei Hauptallele des ApoE Gens. Zu diesen Allen gehören $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ und $\epsilon 4$. Der ApoE4-Genotyp ist bei Patienten mit einem späten Erkrankungsbeginn der sporadischen Alzheimer Demenz, aber auch bei der familiären Form signifikant überrepräsentiert (Corder, Saunders et al. 1993).

Die „cholinerge“ Hypothese sieht einen relativen Mangel an Acetylcholin als Ursache für die Alzheimer Demenz (Bowen, Smith et al. 1976). Acetylcholin ist ein wichtiger Neurotransmitter, der für die kognitive Funktion wichtig ist. Den Mangel dieses Botenstoffes versucht man medikamentös durch Acetylcholinesterase-Hemmer wieder auszugleichen. Sie führen vorübergehend zu einer Verbesserung des kognitiven Leistungsvermögens und der Alltagskompetenzen.

Auch ein Defizit des serotonergen Systems konnte beschrieben werden. Serotonin wird im Bereich von Lernen und Gedächtnis eine wichtige Rolle eingeräumt. D'Amato et al. entdeckten im Frontal- und Temporallappen von Alzheimerpatienten post mortem eine Abnahme des Serotoninspiegels um bis zu 50% (D'Amato, Zweig et al. 1987). Studien beschreiben auch eine Degeneration der serotonergen Neurone bei Patienten mit einer Alzheimer Demenz (Zweig, Ross et al. 1988; Halliday, McCann et al. 1992) und eine Abnahme des Serotonin-Gehaltes im Plasma und in den Thrombozyten (Kumar, Sevush et al. 1995). Auch wurde eine verringerte Konzentration von 5-Hydroxyindolessigsäure im Liquor dementer Patienten gefunden (Liu, Yang et al. 1991; Martignoni, Bono et al. 1991; Blennow, Wallin et al. 1992).

Feuerstein et al. entdeckten des Weiteren Serotoninrezeptoren auf cholinergen Neuronen und wiesen dem Serotonin eine modulatorische Aufgabe in der Freisetzung von Acetylcholin zu (Feuerstein and Seeger 1997). Eine Abnahme dieser

Serotoninrezeptoren könnte also zu einer Veränderung der Acetylcholin-Freisetzung und damit zu einer Verschlechterung der Reizweiterleitung führen.

1.3 Das serotonerge System

Serotonin, auch 5-Hydroxytryptamin (5-HT), erfüllt als Gewebshormon und Neurotransmitter wichtige Funktionen im Organismus. Es ist beteiligt an zahlreichen zentralnervösen Funktionen. Es beeinflusst die Regulation des Schlaf-Wach-Rhythmus, des Essverhaltens, der Schmerzwahrnehmung sowie die Steuerung der Körpertemperatur, der motorischen Aktivität und des Bluthochdrucks. Das Serotonin hat aber auch eine bedeutende Wirkung auf die Gedächtnisbildung sowie auf die Stimmung, der Kognition und die Kontrolle des Angstverhaltens (Norman, Burrows et al. 1989; Ressler and Nemeroff 2000; Strobel, Dreisbach et al. 2007).

Der größte Teil des menschlichen Serotonins befindet sich in den enterochromaffinen Zellen der Darmmukosa und regt dort die Peristaltik an. Das restliche Serotonin verteilt sich auf die Thrombozyten, die Lymphozyten und die serotonergen Neuronen. Die Zellkörper der serotonergen Neurone sind hauptsächlich in den Raphe-Kernen lokalisiert, werden aber auch in der Formatio reticularis des Mesencephalons, dem Tegmentum mesencephalon, dem Pons cerebri sowie der Medulla oblongata gefunden. Die Forscher Dahlström und Fuxe (1964) bezeichneten die serotonergen Zellgruppen der Raphe-Region entsprechend ihrer Lage und Projektionsgebiete mit B1 bis B9 (Dahlström et. al 1964; Tab.3)

Gruppe	Anatomische Struktur
B1	Nc. raphe pallidus; caudale, ventrolaterale Medulla dorsal der Pyramidenbahn
B2	Nc. raphe obscurus
B3	Nc. raphe magnus; rostrale, ventrolaterale Medulla lateral N. paragigantocellularis reticularis
B4	Nc. raphe obscurus; dorsolateraler Anteil, dorsal des Nc. praepositus hypoglossi auf Höhe des medialen Vestibulariskerns
B5	Nc. raphe medialis; caudaler Anteil, Höhe des motorischen Trigeminuskerns
B6	Nc. raphe dorsalis; caudaler Anteil
B7	Nc. principal dorsalis raphe ; rostraler Anteil
B8	Nc. raphe medialis; rostraler Hauptanteil Nc. pontis oralis
B9	Nc. pontis oralis; supralemniscare Region

Tab.3: Projektionsgebiete B1-B9 der serotonergen Zellgruppen und ihre korrespondierende anatomische Struktur nach Dahlström und Fuxe

Das serotonerge System hat im zentralen Nervensystem ein sehr umfangreiches Innervationsgebiet. Von den rostral gelegenen Zellgruppen B4-B9 ziehen die Axone zu den höher gelegenen Hirnregionen (Cortex, Striatum, Amygdala, Thalamus, Hypothalamus, Hippocampus, Substantia nigra, den suprachiasmatischen Nucleus und das Kleinhirn). Die kaudalen Zellgruppen B1-B3 projizieren in die Medulla oblongata, den Hirnstamm und das Rückenmark (Abb.2).

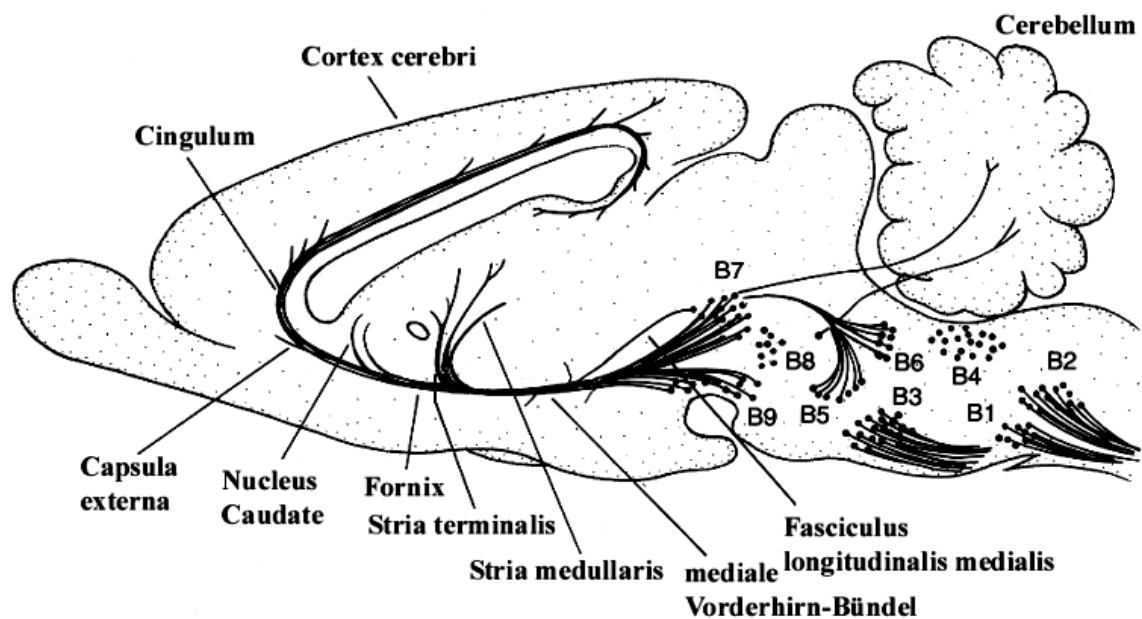


Abb. 2: Serotonerge Neurone im Hirnstamm der adulten Ratte (nach Role und Kelly, 1991)

Serotonin wird zu den biogenen Aminen gezählt und entsteht aus der Aminosäure Tryptophan durch die cytoplasmatische Tryptophanhydroxylase und anschließender Decarboxylierung durch L-aromatische Aminosäuredecarboxylase. Das neusynthetisierte Serotonin wird mit Hilfe eines vesikulären unspezifischen Monoamintransporter (vMAT) in die präsynaptischen Vesikel aufgenommen. So wird das Serotonin gegen zwei Protonen aus dem Lumen des Vesikels ausgetauscht (Knoth, Zallakian et al. 1981). Erreicht ein Aktionspotential die Synapse, erfolgt eine Ca^{2+} -abhängige Exozytose des gespeicherten Serotonins in den synaptischen Spalt. Extrazelluläres Serotonin wird größtenteils aus dem synaptischen Spalt durch einen spezifischen Serotonintransporter wieder in die serotonergen Nervenendigungen aufgenommen. Dort wird es entweder wieder in die Speichervesikel transportiert oder von der an der Außenmembran von Mitochondrien lokalisierten Monoaminoxidase (MAO) zu 5-Hydroxyindolacetaldehyd desaminiert (Abb.3)

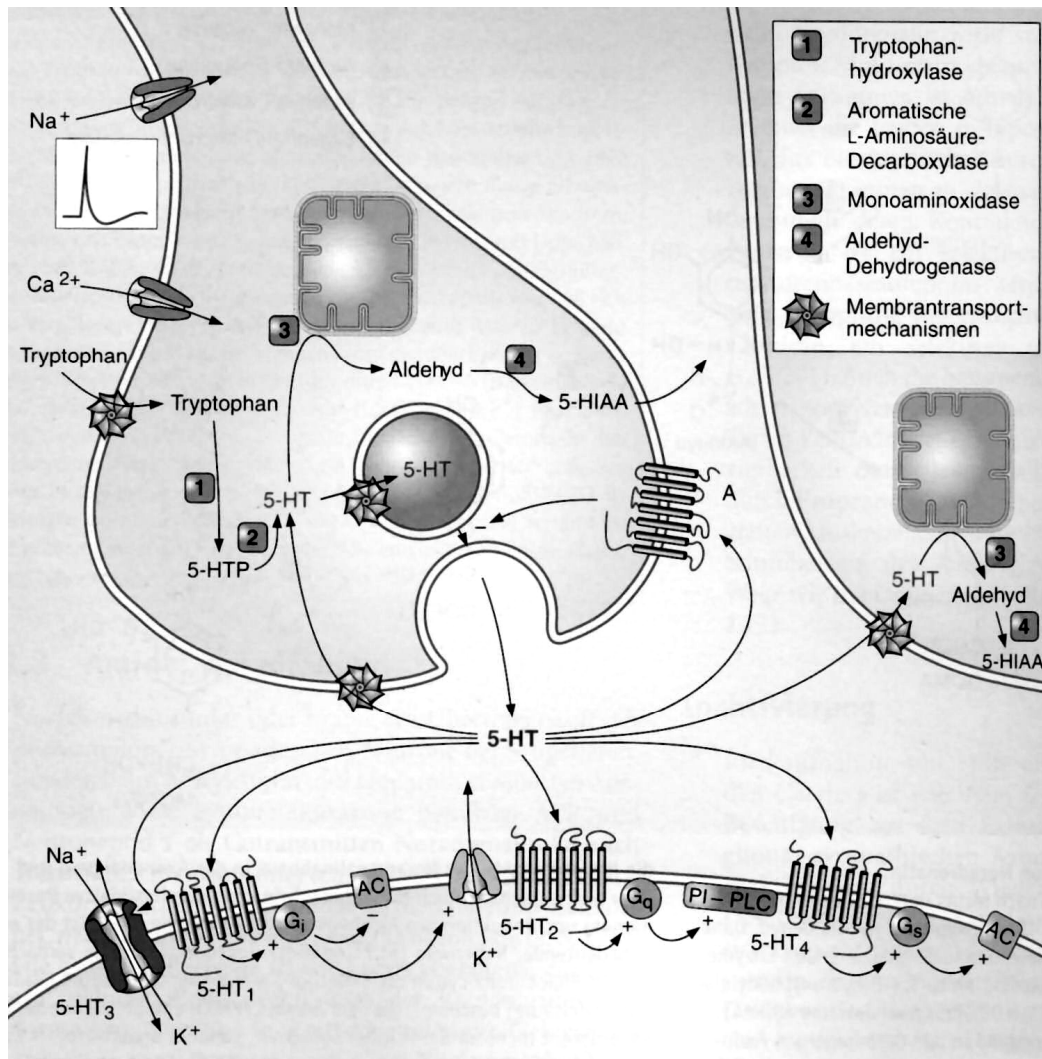


Abb. 3: Synaptische Übertragung durch Serotonin (Aktories, Förstermann et al. 2005)

Für das serotonerge System wurden bisher sieben verschiedene Rezeptorarten entdeckt, die nach ihren pharmakologischen Eigenschaften, ihren molekularen Strukturmerkmalen und intrazellulären Transduktionsmechanismen in verschiedene Rezeptor-Subtypen unterteilt werden. Diese Rezeptoren sind nicht nur für die Wirkung des Serotonins unabdingbar, sondern sie stellen auch wichtige Angriffspunkte verschiedener Pharmaka dar.

1.3.1 Der Serotonintransporter und sein Polymorphismus

Der Serotonintransporter (5-HTT) wird nicht nur an den Synapsen der Neuronen gefunden, sondern auch in Thrombozyten (Lesch, Wolozin et al. 1993), pulmonalen und plazentaren Zellen (Ramamoorthy, Bauman et al. 1993), in der Nebenniere (Blakely, Berson et al. 1991) und in den Lymphoblasten (Faraj, Olkowski et al. 1994). Seine Aufgabe ist es, extrazelluläres 5-HT im Kotransport mit Na^+/Cl^- in die Präsynapse zu befördern. Dieser Ionengradient wird über eine Na^+/K^+ -ATPase aufrechterhalten.

Der 5-HTT ist ein Protein, das sich aus 630 Aminosäuren zusammensetzt und eine Primärstruktur von 12 Transmembranregionen aufweist. Die Primärstruktur des humanen 5-HTT besitzt jeweils an den Positionen 8, 277 und 603 eine Phosphorylierungsstelle für die Proteinkinase C, an der Position 13, 40 und 301 eine Phosphorylierungsstelle für die cAMP-abhängige Proteinkinase und eine Phosphorylierungsstelle für die Ca^{2+} -Calmodulin-abhängige Kinase (CaMKII) (Lesch, Wolozin et al. 1993). Postrtranslationale Modifikation durch Phosphorylierung der Proteinkinase C (PKC) reduziert die maximale Transportrate (V_{max}) des 5-HTT (Qian, Galli et al. 1997; Ramamoorthy, Giovanetti et al. 1998). Ähnlich der PKC induzieren auch Calmodulin (CaM)-Inhibitoren bzw. CaMKII-Inhibitoren eine Abnahme der V_{max} des 5-HTT (Jayanthi, Ramamoorthy et al. 1994). Die Phosphorylierung durch die Proteinkinase A erbringt keine Veränderung der Transportrate (Ramamoorthy, Giovanetti et al. 1998).

Im Jahre 1994 konnte der lange Arm des Chromosoms 17 (siehe Abb.4) als Genort des 5-HTT identifiziert werden (Lesch, Balling et al. 1994). Das Gen, das sich aus 14 Exons zusammensetzt, weist eine Gesamtlänge von 35 kb auf. Untersucht man das Gen nach Polymorphismen, so kann man im zweiten Intron eine tandemartige, repetitive Sequenz von 17 Basenpaaren finden (Lesch, Balling et al. 1994). In der Promoterregion kann des Weiteren noch ein Längenpolymorphismus gefunden werden, der sich aus einer repetitiven Sequenz mit 16 Guanin-und Cytosin-reichen 20-30 bp langen Elementen zusammensetzt. Der Polymorphismus hat seine Ausprägung in zwei Allelformen. Durch die Insertion oder Deletion von 44 Basenpaaren entsteht die lange L (long)-bzw. die

kurze S (short)-Form, so dass sich die Genotypen L/L, S/L und S/S ergeben. Untersuchungen an monozygoten JAR-Zellen und Lymphoblasten (Lesch, Bengel et al. 1996) zeigen, dass Zellen mit dem kurzen Allel des 5-HTT-Promoters eine bis zu 40%-Reduktion der 5-HTT-Expression aufweisen, was die Prävalenz für die Ausbildung von Depressionen und Angststörungen fördert. Auch zeigen weitere Studien, dass mit einer zunehmenden Anzahl der kurzen Allele (also $LL < LS/SL < SS$) das Erkrankungsrisiko einer Bipolaren Psychose (Collier, Stober et al. 1996), einer ängstlich-vermeidenden Persönlichkeitsstörungen (Jacob, Strobel et al. 2004) und einer Alkoholabhängigkeit (Sander, Harms et al. 1998) ansteigt (siehe Abb.5).

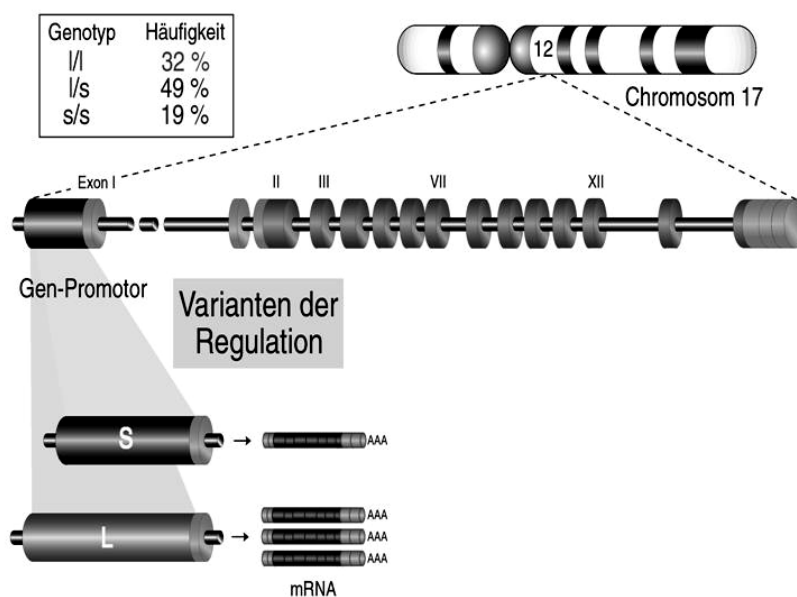


Abb.4: Die 5-HTTLPR-Region (Canli and Lesch 2007)

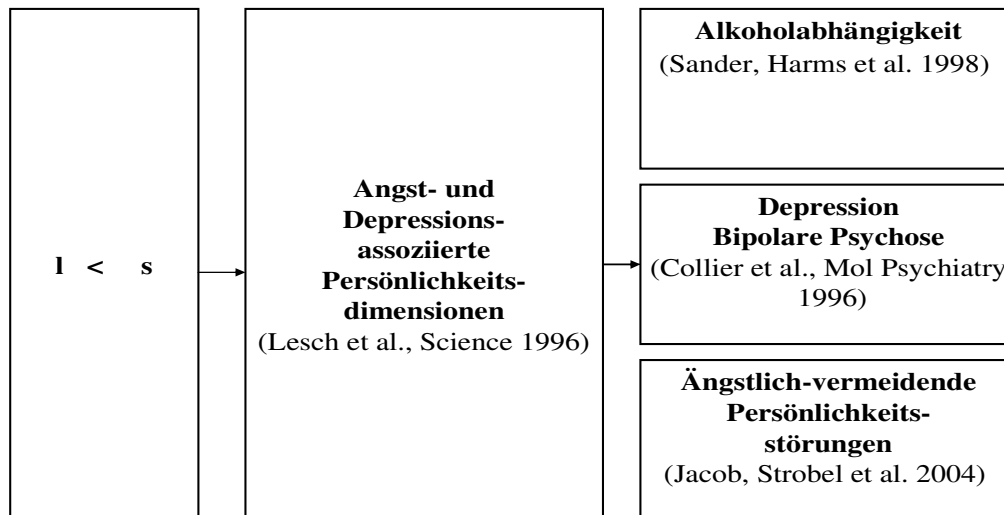


Abb.5: Die kurze Allelform des 5-HTT-Promoters und seinen Einfluss auf die Psyche

1.4 Die Vienna Transdanube Aging Studie (VITA-Studie)

Die Veränderung unserer Altersstruktur und die prognostizierte Überalterung unserer Bevölkerung erfordern neue Erkenntnisse aus der Altersforschung. Hierzu trägt die Vienna Transdanube Aging «Studie» des Ludwig Boltzmann Institutes für Altersforschung in Wien bei, die die Frühdiagnose und Risikofaktoren von Demenzerkrankungen und Depressionen alter Menschen zum Ziel hat. Die VITA-Studie aus Österreich ist eine auf einen Geburtsjahrgang bevölkerungsbezogene Querschnitts- und Längsschnittstudie. Für dieses Forschungsprojekt wurden zu 1505 Einwohnern (693 Männer und 1.052 Frauen) des 21. und 22. Wiener Gemeindebezirke Kontakt aufgenommen (Fischer, Jungwirth et al. 2002). Die Studienteilnehmer waren alle zu einem Stichtag (1.5.2000) genau 75 Jahre alt ($75 \pm 0,45$ Jahre) (Grunblatt, Schlosser et al. 2005).

Schließlich unterzogen sich in einem Zeitraum von Mai 2000 bis 2002, 606 Personen den kompletten Basisuntersuchungen (psychosoziale Daten, Blutbefunde, psychologische, psychiatrische und neurologische Untersuchungen, Magnetresonanztomographie). Diese Untersuchungen wurden vom Ludwig Boltzmann Institut für Altersforschung im Donauespital (SMZ-Ost) organisiert und durchgeführt. Der Basisuntersuchung folgten zwei Nachuntersuchungen in einem zeitlichen Abstand

von 30 Monaten (Tabelle 4) Diese Arbeit beruht ausschließlich auf den Ergebnissen der Basisuntersuchung.

Phase	Beginn	Ende
Basisuntersuchung	Mai 2000	November 2002
1. Nachuntersuchung	Dezember 2002	Mai 2005
2. Nachuntersuchung	Juni 2005	Dezember 2007

Tab.4: Studienverlauf

1.5 Zielsetzung:

Unsere heutige Gesellschaft ist durch einen hohen und wachsenden Anteil alter Menschen geprägt. Psychische Erkrankungen wie Demenzen und Depressionen im Alter nehmen daher an Bedeutung zu. Die VITA-Studie liefert bevölkerungsbezogene Daten, die für die Erforschung der Risikofaktoren dieser Erkrankungen herangezogen werden können.

In dieser Arbeit wird nun mit Hilfe der Ergebnisse der Basisuntersuchung der VITA-Studie untersucht, ob der Längenpolymorphismus des Serotonin-Transporters einen Einfluss auf die Entstehung einer Depression oder einer Demenz hat. Es wird die Hypothese aufgestellt, dass eine Assoziation zwischen dem 5-HTTLPR und einer Depression oder einer Demenz in der VITA-Studie besteht. Diese Hypothese gilt es durch neurochemische und statistische Methoden zu prüfen.

2. Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Material für die Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction, PCR)

Die aufgeführten Chemikalien sind von der Qualitätsstufe pro analysis. Die Bezugsquelle ist, soweit nicht anders angegeben, die Firma Sigma, Deisenhofen.

2.1.2 Geräte

Spannungsgerät Elektrophoresis Powerpack P24	Biometra GmbH, Göttingen
Heizplatte	A. Hartenstein GmbH, Würzburg
Magnetrührer GLW	A. Hartenstein GmbH, Würzburg
Feinwaage	Mettler-Toledo GmbH, Giessen
Gelkammer/Kämme	PegLAB, Erlangen
UV-Tisch	PegLAB, Erlangen
Thermo-Cycler	Biometra GmbH, Göttingen
Pipetten	Eppendorf GmbH, Hamburg
Tischzentrifuge	Lab4you GmbH, Berlin
Chemi-Doc	Bio-Rad GmbH, München

2.1.3 Verbrauchsmaterial

Dünnwand Reaktionsgefäße 0,2 ml	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht
Reaktionsgefäße(Tubes)1 ml	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht
Pipettenspitzen	Eppendorf GmbH Hamburg
96- <i>well</i> PCR Platte	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht

2.1.4 Puffer und Lösungen

<u>TAE-Puffer</u> 40 mM Tris-Acetat 1 mM EDTA (pH 8,0)	Sigma, Deisenhofen
<u>GoldStar ®-Puffer</u> 750mM Tris-HC(pH 9) 200mM (NH ₄) ₂ SO ₄ 0,1% Tween 20	Sigma, Deisenhofen

Oligonukleotide

Primer

F: 5'- GAG GGA CTG AGC TGG ACA AC-3'

Qiagen Operon GmbH

Köln, Deutschland

R: 5'- GCA GCA GAC AAC TGT GTT CAT C-3'

Qiagen Operon GmbH

Köln, Deutschland

Enzyme

Taq Polymerase (Housemade)

Chemikalien

Agarose	Seakem LE Agarose, Cambrex Bio Science Rockland ME USA
Ethidiumbromid	Sigma, Deisenhofen
Magnesiumchlorid	Sigma, Deisenhofen
50bp DNA-Ladder	Invitrogen, Karlsruhe
6x Orange Loading Dye Solution	Fermentas GmbH St.Leon-Rot

Nukleotide

Es wird ein Nukleotidmix von Fermentas GmbH, St.Leon-Rot, bestehend aus den Natriumsalzen dATP, dCTP, dGTP und dTTP in einer Konzentration zu je 10 mmol/l, pH 7,0 verwendet, der direkt einer Polymerase-Kettenreaktion beigemischt wird.

2.1.5 Material für die elektrophoretische Auftrennung

Agarose-Gel (2%)

2g Agarose

100 ml Puffer

5µl Ethidiumbromid

Ethidiumbromid-Lösung

Ethidiumbromid in 10 ml H₂O gelöst mit einer Endkonzentration von 10 mg/ml

2.2 Probandenrekrutierung

2.2.1. Probanden

Die Probanden wurden aus der VITA- Studie rekrutiert (Fischer, Jungwirth et al. 2002), die zu einem Stichtag (1.5.2000) genau 75 Jahre alt (75 ± 0.45 yrs) waren (Grunblatt, Schlosser et al. 2005) und dem 21.und 22.Wiener Gemeindebezirk angehörten. Für diese Arbeit wurden zwei Probandengruppen gebildet (siehe unten).

Die Studienteilnehmer mussten sich im Rahmen der Basisuntersuchung neuropsychologischen Tests unterziehen und eine Blutprobe entnehmen lassen, um mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (englisch *Polymerase Chain Reaction*, PCR) den 5-HTTLPR-Genotyp ermitteln zu können.

2.2.1.1 Neuropsychologische Tests

Im Rahmen der Untersuchungen unterzogen sich die Probanden einer Serie von verschiedenen neuropsychologischen Tests zur Detektierung von Depressionen und Demenzerkrankungen. Zu den Tests gehörten die Hamilton-Skala (HAM) (Hamilton

1960), die *Short Geriatric Depression- Skala* (SGDS) (Yesavage, Brink et al. 1982) das *State-Trait* Angstinventar (STAI) aber auch die *Mini Mental State*-Untersuchung (MMSE), der *Fuld Object Memory Test* (FULD) (Fuld, 1980) und das *Clinical Dementia Rating* (CDR) (Hughes, Berg et al. 1982). Die Diagnosestellung einer Depression richtete sich mittels eines strukturierten Interviewverfahrens (Wittchen et al. 1997) nach den Kriterien der **DSM IV** (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*).

Die Hamilton Skala wird häufig verwendet, um den Schweregrad einer Depression zu ermitteln. Sie besteht aus 17 Fragen, bei denen der Untersucher jeweils auf einer Punkteskala von 0 bis 4 oder 0 bis 2 beurteilt, wie schwer ein bestimmtes Symptom ausgeprägt ist. Ein Resultat von 15 bis 18 wird als milde bis mittelschwere Depression gewertet. Schwer depressive Patienten erreichen üblicherweise einen Wert von 25 oder mehr.

Die *Short Geriatric Depression Skala* dient zur Erkennung einer depressiven Symptomatik betagter Patienten. Diese Geriatrische Depressionsskala besteht aus 15 Fragen, die mit «Ja» oder «Nein» beantwortet werden können. Bei mehr als 5 Punkten liegt der Verdacht auf das Bestehen einer Depression nahe.

Bei dem *State-Trait-Angstinventar* handelt es sich um zwei Skalen, die die Angst als Zustand (STAI-1) und Angst als Eigenschaft (STAI-2) erfassen. Das Testmaterial besteht aus 2 Skalen mit jeweils 20 Feststellungen auf 2 getrennten Blättern zur Erfassung von State-Angst und Trait-Angst. Die Auswertung erfolgt durch einfache Summation der Items mit einem Minimum Punktwert von 20 und einem Maximum Punktwert von 80 (Laux et al. 1981).

Der *MMSE* (Zweig, Ross et al. 1988) ist ein zehnminütiger Test, der zur Beurteilung des Schweregrades einer Demenz eingesetzt wird. In den Aufgaben werden Orientierung, Merkfähigkeit bzw. Aufmerksamkeit und Rechenfähigkeit, Erinnerungsfähigkeit, Lesen und Schreiben und visio-konstruktive Fähigkeit überprüft. Der *MMSE* umfasst einen Wertebereich von 0-30 Punkten, wobei 0-11 einer schweren Demenz, 12-18 einer

mitelschweren Demenz, 19-23 einer leichten Demenz, 24-26 einer kognitiven Beeinträchtigung und 27-30 einer unbeeinträchtigten Leistungsfähigkeit entsprechen.

Der *Fuld Objective Memory Test* (Fuld 1980) ist ein weiteres Instrument, das zur Beurteilung des Schweregrades von dementiellen Erkrankungen eingesetzt wird. Hier werden das Benennen und die Merkfähigkeit von 10 Gegenständen getestet. Ab einem Summenwert von 41 ist der Proband in den getesteten Kriterien nicht beeinträchtigt.

Die *Clinical Dementia Rating Scale* von Hughes et al (1982) dient zur Einteilung des Schweregrades einer Demenz. Die Skala erfasst sechs Bereiche (Gedächtnis, Orientierung, Urteils- und Problemlösefähigkeit, berufliche und soziale Fähigkeit, häusliche Aktivitäten und Eigenversorgung). Die Abstufung geht von unbeeinträchtigt (0) über leicht (1), mittel (2) und schwer (3) beeinträchtigt. Fälle, die nicht eindeutig eingestuft werden können, wird die Stufe „fraglich“ (0,5) zugeordnet.

2.2.1.2 Probandengruppen

Für diese Arbeit wurden die Studienteilnehmer in zwei Gruppen (Gruppe I und Gruppe II) unterteilt.

Probandengruppe I

Die Gruppe I bestand aus 544 nicht-dementen Personen, die sich den Testfragen von der Hamilton Depressions Skala, der *Short Geriatric Depression*- Skala und des *State-Trait*-Angstinventars für diese Untersuchungen unterzogen. Eine Demenzerkrankung wurde durch Demenztests wie dem Mini-Mental-Status-Test, *Fuld Objective Memory Test* (Fuld 1980) und dem *Clinical Dementia Rating Scale* ausgeschlossen (Tab.5)

Variabel	Alle Personen (0+1A)	Keine Depressionen oder Symptome einer Depression in der Vergangenheit (0)	Symptome einer Depression der Vergangenheit und/oder bei Befunderhebung (1A)	Keine Symptome einer Depression bei Befunderhebung aber Symptome einer Depression in der Vergangenheit (1B)	Subsyndromale Depression bei Befunderhebung (2a)	Leichte (Minor) Depression bei Befunderhebung (2b)	Schwere Depression (Major) Bei Befunderhebung (2c)	Minor und Major Depressionen bei Befunderhebung (3)
Anzahl der Personen	544	360	184	74	27	47	36	83
Männer/ Frauen	228/316	167/193	61/123	23/51	11/16	14/33	12/23	27/56
Alter, MW \pm SD	75,8 \pm 0,44	75,7 \pm 0,44	75,8 \pm 0,44	75,8 \pm 0,44	75,8 \pm 0,46	75,8 \pm 0,38	75,8 \pm 0,51	75,8 \pm 0,44
Beginn der Depression vor dem 65Lj/ \geq 65Lj / unklar	---	---	95/86/3	48/24/2	21/6/0	12/35/0	14/21/1	26/56/1
MMSE Punktwert MW \pm SD (a)	28,0 \pm 1,5	28,1 \pm 1,4	27,7 \pm 1,5	28,0 \pm 1,3	27,4 \pm 1,7	27,7 \pm 1,6	27,5 \pm 1,5	27,6 \pm 1,6
FULD Punktwert MW \pm SD (b)	43,4 \pm 4,2	44,0 \pm 3,8	42,3 \pm 4,8	43,6 \pm 4,0	40,5 \pm 4,9	42,1 \pm 5,5	41,4 \pm 4,6	41,8 \pm 5,1
HAM- Punktwert MW \pm SD (c)	3,2 \pm 5,3	0,9 \pm 1,6	7,8 \pm 6,9	2,4 \pm 2,9	5,7 \pm 3,3	10,4 \pm 5,4	16,8 \pm 5,1	13,2 \pm 6,2
SGDS Punktwert MW \pm SD (d)	2,3 \pm 2,4	1,6 \pm 1,6	3,6 \pm 1,9	2,1 \pm 1,7	3,0 \pm 2,5	4,0 \pm 2,6	6,6 \pm 3,2	5,3 \pm 3,1
STAI 1 Punktwert MW \pm SD (e)	34,1 \pm 9,1	31,6 \pm 7,5	38,9 \pm 10,1	34,4 \pm 7,4	38,0 \pm 9,2	40,1 \pm 9,4	47,7 \pm 11,0	43,4 \pm 10,7
STAI 2 Punktwert MW \pm SD (e)	35,3 \pm 9,6	32,1 \pm 7,1	4,9 \pm 10,4	37,0 \pm 7,8	39,5 \pm 8,1	44,0 \pm 9,1	51,6 \pm 11,3	47,3 \pm 10,7

(a) Wilcoxon Test: (0) vs. (1B) $p=0,39$ vs. (2) $p=0,0008$

(b) Wilcoxon Test: (0) vs. (1B) $p=0,42$ vs. (2) $p<0,0001$

(c) Wilcoxon Test: (0) vs. (1B) $p=0,0001$ vs. (2) $p<0,0001$

(d) Wilcoxon Test: (0) vs. (1B) $p=0,008$ vs. (2) $p<0,0001$

(e) Wilcoxon Test Analyse für die Summe von STAI 1 und STAI 2 (0) vs. (1B) $p<0,0001$ vs. (2) $p<0,0001$

Tab.5: Testergebnisse von MMSE, FULD, HAM, SGDS, STAI-1 und STAI-2 der nicht-dementen Probandengruppe (Gruppe I)

Die Tabelle 5 ordnet der Gruppe I die erzielten Punktwerte (Mittelwert *MW* mit Standardabweichung *SD*) von Depressions- und Angsttests zu. Eine Demenzerkrankung konnte durch einen erzielten Punktwert von über 27,0 im MMSE ausgeschlossen werden. Die Personengruppe 0 bestand aus Probanden, die keine Depressionen oder Symptome einer Depression in der Vergangenheit hatten. Probanden, die jemals unter Symptome einer Depression in der Vergangenheit und/oder bei Befunderhebung litten, wurden der Gruppe 1A zugeordnet. Die Personengruppe 1B bestand aus Probanden, die keine Depression bei Befunderhebung, aber Symptome einer Depression in der Vergangenheit aufzeigten. Der Gruppe 2 wurden Probanden zugeordnet, die entweder unter subsyndromale (2A), Minor (2B) oder Major Depressionen (2C) litten. Die Gruppe 3 setzte sich aus Probanden zusammen, die Symptome einer Minor und einer Major Depression aufwiesen.

Für die Stärke der Differenz der einzelnen Gruppen wurde der Wilcoxon-Rang-Summentest verwendet. Hierbei zeigten die Gruppen der subsyndromalen Depressionen (2A), der leichten (*Minor*) Depression (2B) und stärkeren (*Major*) Depression (2C) einen signifikant höheren Punktwert in allen Depressions- und Angsttests als die Gruppe 1B. Diese Gruppe 1B hatte wiederum im Vergleich zu der Kontrollgruppe (0), bis auf den Fuld-Test, signifikant höhere Punktwerte in den Angst- und Depressionstests.

Probandengruppe II

Die Gruppe II setzte sich aus 557 Probanden zusammen, die auch Personen mit einer Demenzerkrankung miteinschloß (Tab.6). Von den 557 Probanden hatten 14 Personen eine Alzheimer Demenz (Gruppe DAT), 12 Personen eine vaskuläre Demenz (Gruppe VD) und 12 Personen eine gemischten Demenz (Gruppe GD). Die Studienteilnehmer der DAT-Gruppe erfüllten die Kriterien des *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke – Alzheimer's Disease and Related Disorders Association*, NINCDS ADRDA), für eine als wahrscheinlich anzunehmende Demenz vom Alzheimer-Typ (McKhann, Drachman et al. 1984). Die Diagnosestellung der Probanden mit einer vaskulären Demenz richtete sich nach den Kriterien des *National*

Institute of Neurological Disorders and Stroke-Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences, NINDS-AIREN) (Roman, Tatemichi et al. 1993). Probanden der Gemischten-Demenz Gruppe erfüllten die Kriterien der NINCDS-ADRDA und der NINDS-AIREN.

	Gesund	DAT	Gemischte Demenz (GD)	Vaskuläre Demenz (VD)	Alle Demenz- kranke (AD)
n	519	14	12	12	38
Männer/ Frauen	219/300	2/12	4/8	6/6	12/26
Durchschnittsalter (Jahre±SD)	75,7±0,45	75,9±0,03	75,9±0,05	75,02±0,4	75,9±0,4
MMSE Punktwert MW±SD (a)	28,1±1,4	24,4±2,1	24,5±2,2	26,25±1,2	25,69±4,7
FULD– Punktwert MW±SD (b)	43,7±4,0	35,5±9,5	37,0±7,3	39,75±8,7	37,32±8,5
CDR– Punktwert MW±SD (c)	0,024±0,1	0,4±0,3	0,5±0,3	0,3±0,3	0,4±0,3
HAM – Punktwert MW±SD	3,3±5,3	4,4±8,2	6,0±7,6	4,1±7,0	4,8±7,5
STAI 1– Punktwert MW±SD (d)	34,1±9,3	37,6±13,2	35,9±9,6	38,4±10,3	37,3±11,0
STAI 2– Punktwert MW±SD (e)	35,2±11,3	36,5±10,8	40,5±10,1	39,0±12,0	38,6±10,8

(a) Wilcoxon Test: Gesund vs. DAT $p=0,0023$ vs. GD $p<0,0001$ vs. VD $p=0,0054$ vs. AD $p<0,0001$

(b) Wilcoxon Test: Gesund vs. DAT $p=0,0442$ vs. GD $p=0,0289$ vs. AD $p<0,0001$

(c) Wilcoxon Test: Gesund vs. DAT $p=0,0048$ vs. GD $p=0,0035$ vs. AD $p<0,0001$

(d) Wilcoxon Test: Gesund vs. VD $p=0,0365$ vs. AD $p=0,0018$

(e) Wilcoxon Test: Gesund vs. AD $p=0,0157$

Tab.6: Gruppe II und die erzielten Punktwerte in den neuropsychologischen Tests MMSE, FULD, CDR, HAM, STAI 1 und STAI 2

In Tabelle 6 wurde der Gruppe II, die aus 519 nicht-dementen und 38 dementen Personen bestand, die Punktwerte (Mittelwert *MW* mit Standardabweichung *SD*) der Depressions- und Angsttests zugeordnet. Bei der statistischen Auswertung dieser Daten wurde der Wilcoxon-Rang-Summen-Test verwendet. Die Tabelle zeigt, dass die Demenzgruppen DAT, VD, GD und AD signifikant weniger Punktwerte im MMSE hatten als die Kontrollgruppe (alle nicht-dementen Probanden). Auch beim FULD-Test erreichten die Probanden der Demenzgruppen DAT, GD und AD signifikant weniger Punkte als die nicht-dementen Probanden. Die VD-Gruppe hatte zwar beim FULD-Test weniger Punkte als die Kontrollgruppe erreicht, jedoch ohne Signifikanz. Bei dem Punktevergleich der CDR-Skala zwischen den einzelnen Demenzgruppen und der Kontrollgruppe konnte bis auf die VD-Gruppe ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Bei den STAI 1- und STAI 2-Tests zeigten alle Demenzgruppen höhere Punktwerte als die Kontrollgruppe. Ein signifikanter Punkteunterschied konnte jedoch nur bei der Gruppe aller Demenzerkrankten (STAI 1: Gesund vs. AD $p=0,0018$, STAI 2: Gesund vs. AD $p=0,0157$) und der VD-Gruppe (STAI 2: Gesund vs. VD $p=0,0365$) beobachtet werden.

2.3 Methoden

2.3.4 Polymerase-Kettenreaktion

Die Polymerase-Kettenreaktion (englisch *Polymerase Chain Reaction*, **PCR**) ist ein Verfahren, um einen bestimmten DNA-Abschnitt *in vitro* zu vervielfältigen. Entdeckt und entwickelt wurde das Verfahren in den Jahren 1983-1985 von Kary Mullis. Der PCR-Prozess beruht auf einem immer wiederkehrenden Zyklus aus drei Schritten. Im ersten Schritt, der Denaturierung, wird die doppelsträngige DNA auf 94-96°C erhitzt, um die Stränge zu trennen. In der Phase der Anlagerung (*annealing*), dem zweiten Schritt, wird die Temperatur auf 50-65 °C gesenkt, so dass die Primer sich an die einzelnen DNA-Stränge anlagern können. Die Temperatur wird nun im dritten Schritt (*elongation*) auf 68°C – 72°C wieder erhöht. Das ist die ideale Arbeitstemperatur für die DNA-Polymerase, die von diesen Primern aus, unter Verwendung der zugegebenen

Desoxynucleosidtriphosphate (dNTP), die komplementären Stränge zur DNA in Richtung 5'-Ende synthetisiert. Damit ist der gewünschte DNA-Abschnitt verdoppelt und ein neuer Zyklus kann beginnen. Die vollautomatischen PCR-Geräte durchlaufen meist 30-40 Zyklen, wodurch man theoretisch auf eine Vervielfältigung des Ausgangsmaterials um den Faktor 2^{30} - 2^{40} kommt.

2.3.2 Genotypisierung

Zur Genotypisierung wurden jedem Probanden EDTA-Blut abgenommen und analysiert. (Grunblatt, Schlosser et al. 2005). Die DNA wurde aus 2 ml EDTA Blut gewonnen, in kälteresistente Töpfchen (Nunk GmbH, Wiesbaden, Deutschland) aliquotiert und bei -70°C eingefroren.

Unter Verwendung der PCR wurde von der extrahierten DNA die Allelvariation der Promoterregion des 5-HTT-Gens (SLC6A4) bestimmt. Der Polymorphismus besteht aus zwei Allelvariationen. Die kurze S (*short*)-Form (585 bp) und die lange L (*long*)-Form (673bp).

Bei den untersuchten DNA-Abschnitten lagen folgender PCR-Ansatz und Reaktionsbedingungen vor:

Reaktionsmix für eine Reaktion

Reagenz	Volumen (µl)	Endkonzentration
Puffer x10	2,5	1x
MgCl₂ (25 mM)	0,8	0,8 mM
dNTP (10 mM <i>each</i>)	1,0	200 µM
Taq- Polymerase (<i>House made</i>)	0,8	0,5 Units/25 µl
genomische DNA	1,0	50 ng
Primers F (10pmol/µl)	0,8	0,64 p/λ

Primers R (10pmol/μl)	0,8	0,64 p/λ
H₂O sterile	17,3	-
Gesamtreaktionsvolumen	25,0 μl	-

Ablauf der PCR

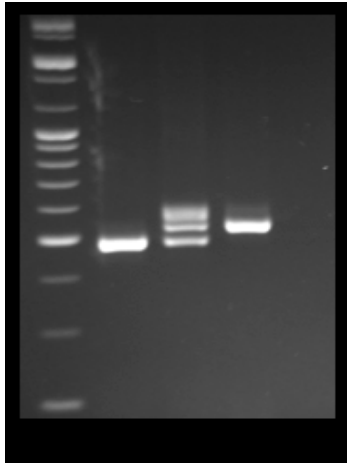
PCR-Schritte	Temperatur [°C]	Zeitdauer [sec]
Denaturierung:	95,0°C	45 sec
Primer-Anlagerung	61,2°C	45 sec
Primer-Extension	72,0°C	45 sec
Stop	15,0°C	

Vor jeder Reaktion erfolgte ein initialer Denaturierungsschritt von 3 min bei einer Temperatur von 95,0 °C und ein finaler Syntheseschritt von 3 min bei 72,0 °C.

2.3.3 Agarose-Gelelektrophorese

Die Gelelektrophorese ist eine Methode bei der Agarose als Trägermedium benutzt wird, um Nukleinsäure-Stränge (RNA oder DNA) nach ihrer Größe zu trennen. Die Konzentration der Agarose bestimmt dabei die Größe der Fragmente. Bei den vorliegenden Untersuchungen erfolgte die Längenauftrennung bei 100V elektrophoretisch in einem 2% Agarosegel. Außerdem enthielt das Agarose-Gel zur Visualisierung der DNA 5μl Ethidiumbromid, einen Farbstoff, der in die DNA interkalierte und bei Bestrahlung mit UV-Licht fluoreszierte. Nach Abschluss der Elektrophorese konnte die aufgetrennte DNA über die Fluoreszenz der DNA-

Ethidiumbromid-Komplexe bei UV-Bestrahlung nachgewiesen werden. Die Dokumentation der Agarose-Gele erfolgte mit dem ChemiDoc-Geldokumentationssystem der Firma BioRad.



1. 2. 3.

Abb.6: Agarosegel mit Banden für den 5-HTTLPR-Genotyp.

Bande 1: S/S-Genotyp, Bande 2: S/L-Genotyp, Bande 3: L/L-Genotyp (Lee et al 2002).

2.3.4 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung der Fragestellung, ob eine Assoziation zwischen dem 5-HTTLPR-Polymorphismus und einer Depression besteht, wurde das Statistikprogramm SAS (SAS 8.02; SAS Institute Inc., Cary, N.C.) verwendet.

Die Testergebnisse (MMSE, FULD, HAM, STAI 1 und STAI 2) der Gruppe, die eine positive Anamnese für Depressionen in der Vergangenheit und/oder bei Befunderhebung hatten, wurde mit Hilfe des Wilcoxon-Rang-Summen-Test mit den Daten der Kontrollgruppe (keine Depressionen in der Vergangenheit oder bei Befunderhebung) verglichen. Bei signifikanten Ergebnissen wurde für die weiteren Subgruppen auch der Wilcoxon Test verwendet. Für diese Untersuchungen galt ein Signifikanzniveau von $p < 0,025$ (nach Bonferroni-Korrektur für multiple Tests). Für alle anderen Tests wurde die Irrtumswahrscheinlichkeit bei $p < 0,05$ angesetzt.

Eine Assoziation zwischen den Mittelwerten der Testergebnisse von HAM, SGDS, STAI 1 und 2 und die Genotyp- und Allelverteilung von Probanden mit Depressionen bei Befunderhebung wurde mit dem Wilcoxon Test berechnet.

Der Cochran-Armitage Trend Test wurde verwendet, um eine Assoziation zwischen dem Genotyp des 5-HTTLPR und einer Depression aufzudecken.

Für die statistische Auswertung der Fragestellung, ob der 5-HTT-Polymorphismus in Assoziation zu einer Demenzen steht, wurde das Statistikprogramm StatView (Stat View 5.0.software. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA) angewendet. Auch hier wurde die Stärke der Differenz der Testergebnisse (MMSE, FULD, HAM, STAI 1 und STAI 2) von den unterschiedlichen Demenzgruppen mit dem Wilcoxon-Test berechnet. Eine Assoziation zwischen den Mittelwerten der Testergebnisse von MMSE, FULD, CDR, Hamilton STAI 1 und STAI 2 und die Genotyp- und Allelverteilung der Kontroll- und unterschiedlichen Demenz-Gruppe wurde ebenfalls mit dem Wilcoxon Test berechnet. Das Signifikanzniveau wurde bei $p < 0,05$ festgelegt. Für die Untersuchung, ob der Genotyp und das Auftreten der S- und L-Allele in Assoziation zu einer Demenzerkrankung steht, wurde der Chi-Quadrat-Unabhängigkeitstest und der exakte Fisher-t-Test verwendet. Die Häufigkeit der Genotypen wurde nach der Hardy-Weinberg Formel berechnet. Für alle Tests galt ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$.

3. Ergebnisse

3.1 Der 5-HTTLPR bei Probanden mit eine Depression bei Befunderhebung und/oder in der Vergangenheit

Die Ergebnisse der ersten Untersuchung sollen nun zeigen, ob der Genotyp des 5-HTTLPR und das Auftreten einer Depression der Probanden in einem signifikanten Zusammenhang stehen. Den einzelnen Gruppen wurden die Häufigkeitsverteilung des Genotypes und die Allelfrequenzen des 5-HTTLPR zugeordnet und mit der Kontrollgruppe (0) verglichen. Die Kontrollgruppe bestand aus 360 Probanden, die keine Depressionen und Symptome einer Depression bei Befunderhebung und/oder Vergangenheit angaben.

Die Ergebnisse der Tabelle 7 zeigen, dass die Verteilung der Genotypen in den einzelnen Gruppen nicht signifikant vom Hardy-Weinberg Equilibrium abweicht. Des Weiteren ist die prozentuale Häufigkeit des SS-Genotyps und des S-Alleles von Probanden, die in der Vergangenheit und/oder bei Befunderhebung an Symptome einer Depression litten, signifikant höher als in der Kontrollgruppe (0) (SS Genotyp: 20,7% und 14,4%; Trend-Test $p = 0,01$; S-Allel: 45,4 % und 37,2 %; Trend-Test $p = 0,009$). Auch bei Probanden, die nur bei Befunderhebung Symptome einer Depression aufzeigten, ist der SS-Genotyp (24,6%; Trend-Test $p = 0,013$) und das S-Allel (46,8%; Trend-Test $p = 0,011$) signifikanter häufiger vorhanden.

Diese Aussage trifft auch auf die Gruppe zu, die vor dem 65. Lebensjahr an einer Depression erstmalig erkrankten, jedoch ohne signifikantes Ergebnis (SS-Genotyp 21,1%; Trend –Test $p = 0,64$; S-Allel: 57,4%; Trend–Test $p = 0,64$). Der SS-Genotyp und das S-Allel sind bei der Gruppe der Subsyndromalen Depression (SS-Genotyp: 26,0%; S-Allel 46,3%), der Gruppe der Minor Depression (SS-Genotyp: 29,8%; S-Allee 50,0%) und der Major Depression (SS-Genotyp 16,7% und S-Allee: 43,1%) sowie bei der Gruppe, die nach dem 65. Lebensjahr an einer Depression erstmalig erkrankten häufiger vorhanden als bei der Kontrollgruppe, zeigen aber diesbezüglich keine Signifikanz.

Gruppen	Anzahl	Genotyp <i>a</i>			Allele	
		LL (%)	LS (%)	SS (%)	L (%)	S (%)
Keine Depressionen und Symptome einer Depression bei Befunderhebung (0)	360	144 (40,0)	164 (45,6)	52 (14,4)	(62,8)	(37,2)
Symptome einer Depression in der Vergangenheit und/oder bei Befunderhebung (1A)	184	55 (29,9)	91 (49,5)	38 (20,7) <i>b</i>	(54,6)	(45,4) <i>c</i>
Keine Symptome einer Depression bei Befunderhebung aber Depressionen in der Vergangenheit (1B)	74	21 (28,4)	42 (56,8)	11 (14,8) <i>d</i>	(56,8)	(43,2) <i>e</i>
Subsyndromale Depressionen bei Befunderhebung (2)	27	9(33,3)	11(40,7)	7(26,0)	(53,7)	(46,3)
Minor Depression bei Befunderhebung (2)	47	14 (29,8)	19 (40,4)	14 (29,8)	(50,0)	(50,0)
Major Depression bei Befunderhebung (2)	36	11 (30,0)	19 (52,8)	6(16,7)	(56,9)	(43,1)
Symptome einer Depression bei Befunderhebung (2)	110	34 (30,9)	49 (44,5)	27 (24,6) <i>f</i>	(53,2)	(46,8) <i>g</i>
Symptome einer Depression in der Vergangenheit und/oder bei Befunderhebung mit Beginn vor dem 65 Lebensjahr	95	31 (32,6)	44 (46,3)	20 (21,1) <i>h</i>	(32,6)	(57,4) <i>i</i>
Symptome einer Depression in der Vergangenheit und/oder bei Befunderhebung mit Beginn \geq dem 65 Lebensjahr	89	24 (27,0)	47 (52,8)	18 (20,2)	(27,9)	(73,0)

a Hardy-Weinberg Equilibrium Konformität: $\chi^2 = 0,3$ $p > 0,05$ (weicht statistisch nicht von der Hardy-Weinberg-Regel ab)

b SS Genotyp: Symptome einer Depression bei Befunderhebung u./o. in der Vergangenheit vs. Kontrolle: Cochran-Armitage Trend Test $p = 0,01$

c S Allel: Symptome einer Depression bei Befunderhebung u./o. in der Vergangenheit vs. Kontrolle: Cochran-Armitage Trend Test $p = 0,009$

d Gruppe 0 vs. Gruppe 1B: Cochran-Armitage Trend Test $p = 0,17$

e Gruppe 0 vs. Gruppe 1B: Cochran-Armitage Trend Test $p = 0,17$

f SS Genotyp: Gruppe 0 vs. Gruppe 2: Cochran-Armitage Trend Test $p = 0,013$

g S Allel: Gruppe 0 vs Gruppe 2: Cochran-Armitage Trend Test $p = 0,011$

h Cochran-Armitage Trend test: $p = 0,64$

i Cochran-Armitage Trend test: $p = 0,64$

Tab.7: Der 5-HTTLPR bei Probanden mit einer Depression bei Befunderhebung und/oder in der Vergangenheit

In Tabelle 8 wird dem Mittelwert (MW \pm SD) der Testergebnisse (HAM, SGDS, STAI 1+2) die Genotyp- und Allelverteilung von Probanden mit Depressionen bei Befunderhebung der Basisuntersuchung, zugeordnet.

Die statistische Auswertung der Daten aus Tabelle 8 zeigen keine signifikant höheren Punktwerte in den Depressions- und Angsttests bei Probanden mit einem SS-Genotyp oder einem S-Allel.

	Genotyp			Allele	
Skalen	LL (N=34)	LS (N=49)	SS (N=27)	S-Allel (N=76)	Kein S-Allel (N=34)
HAM-D	10,5 \pm 6,3	12,1 \pm 6,4	11,1 \pm 6,8	11,8 \pm 6,5	10,5 \pm 6,3
SGDS	5,0 \pm 2,6	5,3 \pm 3,5	2,9 \pm 2,2	4,5 \pm 3,3	5,0 \pm 2,6
STAI1	44,3 \pm 8,1	42,3 \pm 12,3	38,7 \pm 9,4	41,1 \pm 11,5	44,3 \pm 8,1
STAI2	45,7 \pm 9,9	46,6 \pm 11,4	42,4 \pm 9,8	45,2 \pm 11,0	45,7 \pm 9,9

Tab.8.: Mittelwerte (MW \pm SD) der Testergebnisse (HAM, SGDS, STAI 1+2) und die Genotyp- und Allelverteilung von Probanden mit Depressionen bei Befunderhebung während der Basisuntersuchung.

3.2 Der 5-HTTLPR bei Probanden mit eine Demenz-Erkrankung

In Tabelle 9 wird den Demenzgruppen die Häufigkeitsverteilung des Genotyps und der Allelfrequenzen des 5-HTTLPR zugeordnet und mit der Kontrollgruppe (gesunde Probanden) verglichen.

Die Tabelle zeigt, dass die Verteilung der Genotypen in den einzelnen Gruppen nicht signifikant vom Hardy-Weinberg Equilibrium abweicht.

Für die Untersuchung, ob der Genotyp und das Auftreten der S- und L-Allele in Assoziation zu einer Demenzerkrankung steht, wurde der Chi-Quadrat-Unabhängigkeitstest und der exakte *Fisher-t-Test* verwendet. Die Tabelle zeigt aber, dass kein signifikantes Auftreten der unterschiedlichen Genotypen oder der

Allelfrequenzen der Subgruppen beobachtet werden kann. Die prozentuale Häufigkeit des LL- (42,1%) und LS-Genotyps (57,9%) aller Dementen ist höher als in der Gruppe der gesunden Probanden (LL-Genotyp: 36,8% und LS-Genotyp 46,6%). Das L-Allel wird zwar bei der Gruppe aller Demenzerkrankten häufiger beobachtet als bei der Kontrollgruppe, zeigt diesbezüglich aber keine Signifikanz.

Die Tabelle zeigt auch, dass der SS-Genotyp nur bei der Gruppe der gesunden Probanden gefunden werden kann (16,5%). In den Subgruppen der dementen Probanden tritt dieser Genotyp gar nicht auf. Auch das S-Allel wird bei der Kontrollgruppe häufiger (39,9%) gefunden als bei der Gruppe der Alzheimer Demenz (28,6%), der gemischten Demenzen (25,0%), der vaskulären Demenz (33,3%) und der Gruppe aller Demenzerkrankten (0,8%). Dafür kann aber eine Zunahme des L-Allels in den Subgruppen der dementen Probanden beobachtet werden, jedoch ohne signifikantes Ergebnis.

Anzahl	N	Genotyp			Allel Frequenz	
		LL (%)	LS (%)	SS (%)	L (%)	S (%)
Gesund	519	191 (36,8)	242 (46,6)	86 (16,5)	624 (60,1)	414 (39,9)
DAT	14	6 (42,9)	8 (57,1)	0 (0,0)	20(71,4)	8 (28,6)
Gemischte Demenz	12	6 (50,0)	6 (50,0)	0(0,0)	18 (75,0)	6 (25,0)
Vaskuläre Demenz	12	4(33,3)	8 (66,7)	0 (0,0)	16 (66,7)	8(33,3)
Alle Dementen	38	16(42,1)	22 (57,9)	0 (0,0)	54 (69,2)	22(30,8)

Hardy Weinberg Equilibrium: $\chi^2=0,295$ $p>0,05$ (weicht statistisch nicht vom Hardy-Weinberg Equilibrium ab)

Tab.9: 5-HTTLPR Genotyp und Allelfrequenzen der Demenzgruppen im Vergleich mit gesunden Personen

In Tabelle 10, 11 und 12 werden den Genotypen und den S- und Nicht-S-Allelträger des 5-HTTLPR der Demenzgruppen, die Mittelwerte ($MW \pm SD$) der erzielten Punkte in den Tests (MMSE, Fuld, CDR, Ham-D, STAI 1 und STAI 2) zugeordnet.

Bei der statistischen Auswertung dieser Daten ergibt sich bei den betrachteten Gruppen aber kein signifikanter Mittelwertunterschied.

	Gesund					Alzheimer Demenz				
	Genotyp			Allel		Genotyp			Allel	
	LL	SL	SS	S-Allel-Träger	Kein S-Allel-Träger	LL	SL	SS	S-Allel-Träger	Kein S-Allel-Träger
Anzahl N	191	242	86	624	191	6	8	0	8	6
MMSE (MW±SD)	28,1 ±1,4	28,1 ±1,5	28,2 ±1,3	28,1 ±1,4	28,1 ±1,4	24,0 ±2,9	24,8 ±1,5	---	24,8 ±1,5	24,0 ±2,9
Fuld (MW±SD)	43,7 ±4,1	43,5 ±4,1	44,2 ±3,6	43,8 ±4,0	43,7 ±4,1	34,3 ±7,8	36,4 ±11,1	---	36,4 ±11,1	34,3 ±7,8
CDR (MW±SD)	0,03 ±0,1	0,03 ±0,1	0,01 ±0,1	0,03 ±0,1	0,03 ±0,1	0,4 ±0,4	0,4 ±0,2	---	0,4 ±0,2	0,4 ±0,4
Hamilton-Skala (MW±SD)	2,9 ±4,7	3,4 ±5,4	3,6 ±6,0	3,5 ±5,6	2,9 ±4,7	4,3 ±8,4	4,4 ±8,7	---	4,4 ±8,7	4,3 ±8,4
STAI 1 (MW±SD)	34,1 ±9,0	34,0 9,7	34,2 ±8,5	34,1 ±9,2	34,1 ±9,0	36,8 ±11,4	38,3 ±15,2	---	38,3 ±15,2	36,8 ±15,2
STAI 2 (MW±SD)	34,1 ±9,0	34,0 ±9,8	34,3 ±9,6	34,3 ±9,0	34,2 ±9,0	37,2 ±13,5	36,0 ±9,2	---	36,0 ±9,2	37,2 ±13,5

Tab.10: Mittelwerte mit Standardabweichung (MW±SD) der erzielten Punkte in den Demenz- und Angst-Tests (MMSE, FULD, CDR, Hamilton STAI 1 und STAI 2) und die Genotyp- und Allelverteilung der Kontroll- und Alzheimer Demenz-Gruppe

	Gemischte Demenz					Vaskuläre Demenz				
	Genotyp			Allel		Genotyp			Allel	
	LL	SL	SS	S- Allel- Träger	Kein S- Allel- Träger	LL	SL	SS	S- Allel- Träger	Kein S- Allel- Träger
N	6	6	0	6	6	4	8	0	8	4
MMSE (MW±SD)	24,3 ±1,0	24,7 ±3,1	---	24,7 ±3,1	24,3 ±1,0	25,5 ±1,3	25,6 ±1,1	---	26,6 ±1,1	25,5 ±1,3
Fuld (MW±SD)	37,5 ±7,1	36,5 ±8,2	---	36,5 ±8,2	37,5 ±7,1	35,8 ±11,3	41,8 ±6,6	---	41,8 ±6,6	35,8 ±11,3
CDR (MW±SD)	0,6 ±0,2	0,5 ±0,3	---	0,5 ±0,3	0,6 ±0,2	0,4 ±0,5	0,2 ±0,3	---	0,2 ±0,3	0,4 ±0,5
Hamilton- Depressions- Skala (MW±SD)	8,3 ±9,9	3,7 ±3,8	---	3,4 ±3,4	8,3 ±9,9	3,8 ±2,9	4,3 ±8,5	---	4,3 ±8,5	3,8 ±2,9
STAI 1 (MW±SD)	33,8 ±10,0	38,0 ±9,7	---	38,0 ±9,5	33,8 ±10,5	41,0 ±12,7	37,1 ±9,5	---	37,1 ±9,5	41,0 ±12,7
STAI 2 (MW±SD)	40,3 ±11,7	40,7 ±9,3	---	40,7 ±9,3	40,3 ±11,7	43,3 ±13,0	36,9 ±11,8	---	36,9 ±11,8	43,3 ±13,0

Tab.11: Mittelwerte mit Standardabweichung (MW±SD) der erzielten Punkte in den Demenz- und Angst-Tests (MMSE, FULD, CDR, Hamilton STAI 1 und STAI 2) und die Genotyp- und Allelverteilung der Probanden mit einer gemischten oder vaskulären Demenz

	All Demenzkranke				
	Genotyp			Allel	
	LL	SL	SS	S-Allel-Träger	Nicht-S-Allel-Träger
N	16	22		22	16
MMSE (MW±SD)	24,5 ±2,0	25,4 ±2,1	---	25,4 ±2,0	24,5 ±2,0
Fuld (MW±SD)	35,9 ±8,3	38,4 ±8,9	---	38,4 ±8,9	35,9 ±8,3
CDR (MW±SD)	0,5 ±0,3	0,3 ±0,3	---	0,3 ±0,3	0,5 ±0,3
Hamilton- Depressions-Skala (MW±SD)	5,7 ±7,9	4,1 ±7,3	---	4,1 ±7,3	5,7 ±7,9
STAI 1 (MW±SD)	36,8 ±10,8	37,8 ±11,4	---	37,8 ±11,4	36,8 ±10,8
STAI 2 (MW±SD)	39,9 ±12,1	37,6 ±10,0	---	37,6 ±10,0	39,9 ±12,1

Tab.12: Mittelwerte mit Standardabweichung (MW±SD) der erzielten Punkte in den Demenz- und Angst-Tests (MMSE, FULD, CDR, Hamilton STAI 1 und STAI 2) und die Genotyp- und Allelverteilung aller Demenzerkrankten.

4. Diskussion

Die Zielsetzung dieser Arbeit besteht darin, mittels neurochemischen und statistischen Methoden eine Assoziation zwischen dem 5-HTTLPR und einer Depression oder einer Demenz zu belegen.

Im ersten Teil der Diskussion werden die Ergebnisse des 5-HTTLPR bei Probanden mit einer Depression und im zweiten Teil die Ergebnisse des 5-HTTLPR bei Demenzerkrankten diskutiert.

4.1 Der 5-HTTLPR bei depressiven Probanden

Die Untersuchungen zeigen, dass Probanden mit einer Depression bei Befunderhebung und/oder in der Vergangenheit signifikant häufiger Träger eines S-Allels sind oder einen homozygoten SS-Genotyp haben. Dieses signifikante Ergebnis kann auch bei der Gruppe nachgewiesen werden, die nur Symptome einer Depression bei Befunderhebung zeigten. Auch in den Gruppen der Studienteilnehmer mit einer Minor-, einer Major- und einer subsyndromalen Depression oder Symptome einer Depression in der Vergangenheit und/oder bei Befunderhebung mit Beginn vor dem 65. Lebensjahr kann eine Häufigkeitszunahme des S-Allels und des SS-Genotyps beobachtet werden, jedoch ohne ein signifikantes Ergebnis.

Das Fehlen einer statistischen Signifikanz in diesen Gruppen könnte dadurch erklärt werden, dass die Probandenzahl in den Gruppen der Minor-, der Major- und der subsyndromalen Depression zu klein sind. Eine Vergrößerung des Stichprobenumfanges würde die Teststärke ansteigen lassen, d.h. die Wahrscheinlichkeit, mit der ein Signifikanztest einen tatsächlich existierenden Unterschied zwischen zwei Messungen erkennen würde. Es wird sich noch zeigen, ob in den Nachuntersuchungen der VITA-Studie, größere Probandenzahlen der einzelnen Gruppen zu einem signifikanten Ergebnis führen können.

Es wird in der VITA-Studie jedoch kein Zusammenhang zwischen dem 5-HTTLPR-Genotyp und den erzielten Punktwerten in den Depression -und Angstskalen gefunden.

Dieses Ergebnis beschreiben auch weitere Studien (Seretti, Cusin et al. 1999; Gillespie, Whitfield et al. 2005; Willis-Owen, Turri et al. 2005). Diese oft fehlende Assoziation könnte damit zusammenhängen, dass die Diagnosekriterien der Depressionen nach ICD-10 oder DSM-4 sensibler sind, als die nach Bewertungsskalen. Die erzielten Punktwerte in den psychometrischen Tests müssen oft in Frage gestellt werden, da sie Verfälschungen unterliegen können. Diese Verfälschungen der Punktwerte in den Depressions- und Angst-Skalen wird oft damit begründet, dass einige Patienten keine wahrheitsgetreuen Antworten abgeben. Sie wollen nicht auffällig wirken und erreichen somit einen höheren Punktwert. Des Weiteren spiegelt das Ergebnis der Depressionsskalen eher den momentanen Zustand des Patienten wieder und bezieht nicht die Gesamtanamnese mit ein.

Diese Faktoren könnten dazu beitragen, dass die Schwere einer Depression in den Rating-Skalen nicht eindeutig wiedergegeben oder dass eine Depression erst gar nicht diagnostiziert wird. Diese falsch negativen Diagnosen würden dann in Studien die Anzahl depressiver Probanden verkleinern, was zu einer fehlenden Signifikanz führen könnte.

Das Ergebnis einer signifikanten Assoziation zwischen dem 5-HTTLPR und einer Depression in dieser Arbeit entspricht den veröffentlichten Daten anderer Studien (Collier, Stober et al. 1996; Menza, Palermo et al. 1999; Mann, Huang et al. 2000; Willeit, Praschak-Rieder et al. 2003; Kendler, Kuhn et al. 2005; Lenze, Munin et al. 2005; Zalsman, Huang et al. 2006). Auch in diesen Arbeiten wurde gezeigt, dass das kurze Allel (S-Allel) mit einer verminderten Aktivität des Serotonintransporters assoziiert ist und beim Menschen prädisponierend für das Auftreten von ängstlichen, depressiven Verhaltensweisen sein dürfte. Das S-Allel ist jedoch nicht alleine für die Ätiologie der Depression verantwortlich.

Nach einer Studie von Caspi (Caspi, Sugden et al. 2003) sind sogenannte *life events* nötig, um Symptome einer Depression entstehen zu lassen. *Life events* sind kritische Lebensereignisse und Lebensbedingungen, die für den Verlauf einer Depression eine große Relevanz haben. So steigt für S-Allelträger mit den erlebten *life events* das Risiko, an einer Depression zu erkranken.

In weiteren Studien, die das Ergebnis der VITA-Studie unterstützen, wird eine Assoziation zwischen dem kurzen Allel des 5-HTTLPR und Personen, die Selbstmord begangen hatten, aufgezeigt. Auch bei Probanden, die unter einer Depression während der Parkinson-Krankheit leiden, ist das S-Allel überrepräsentiert. (Collier, Stoher et al. 1996; Mossner, Henneberg et al. 2001; Arango, Underwood et al. 2002; Hranilovic, Stefulj et al. 2003).

Das Risiko als Träger des kurzen Allels des 5-HTTLPR eine Depression zu entwickeln, kann dadurch erklärt werden, dass die Transkriptionsrate des Serotonin-Transporter - Gens niedriger ist und somit der Transporter-Level und die Serotonin-Wiederaufnahme sinkt (Lesch, Bengel et al. 1996). Wie Untersuchungen an monozygoten JAR-Zellen und Lymphoblasten (Lesch, Bengel et al. 1996) zeigen, ist die mRNA-Konzentration des Serotonintransporters in Zellen mit zwei langen Allelen 1,4-1,7 mal höher als in Zellen, die eine *Short*-Form der Promoterregion aufweisen. Damit erhöht sich auch die Wiederaufnahme des Serotonins um fast das Doppelte.

In Zellen mit mindestens einer Kopie des kurzen Allels, wird demnach weniger Serotonin in die Zelle aufgenommen. So wird die Konzentration des Serotonins in der Präsynapse und damit die Menge des wieder freigesetzten Serotonins verringert.

Eine verringerte Anzahl von 5-HT in post-mortem Hirngewebe von depressiven Patienten (Owens and Nemeroff 1994) und einer verminderten Serotonin-Aufnahme in Thrombozyten depressiver Patienten (Tuomisto, Tukiainen et al. 1979) unterstützt die Hypothese, dass das kurze Allel zu einer geringeren Expression der Serotonin-Transporter führt und somit einen Einfluß auf die Entstehung einer Depression hat. In weiteren Studie konnte im Liquor depressiver Träger des kurzen Allels, eine verringerte Konzentration von 5-Hydroxyindolessigsäure (Williams, Marchuk et al. 2003) und eine geringere Dichte von Serotonintransportern im Mittelgehirn nachgewiesen werden (Heinz, Jones et al. 2000). Auch diese Studien belegen eine Assoziation zwischen dem kurzen Allel des 5-HTTLPR und einer Depression.

4.2 Der 5-HTTLPR bei dementen Probanden

Die Untersuchungen in der VITA-Studie zeigen keine Assoziation zwischen dem 5-HTTLPR und einer Demenz. Es wird bei der Alzheimer Demenz, der gemischten Demenz und der vaskulären Demenz kein Zusammenhang zwischen dem Genotyp und der Allelfrequenz gefunden. Die Ergebnisse zeigen, dass der prozentuale Anteil des L-Allels in den Subgruppen der dementen Probanden im Vergleich zur Kontrollgruppe höher ist, diesbezüglich jedoch ohne Signifikanz.

In der VITA-Studie wird auch kein Zusammenhang zwischen dem 5-HTTLPR-Genotyp oder Allelträger und den erzielten Punktwerten in den Demenz- und Angstskalen gefunden. Diese fehlende Assoziation zwischen dem 5-HTT-Genotyp und den Punktwerten in Demenzskalen spiegelt das Ergebnis der VITA-Studie wieder, dass weder das S- noch das L-Allel einen Einfluss auf die Entstehung einer Demenz hat. Es belegen weitere Studien, dass der 5-HTTLPR in keiner Assoziation zu den erzielten Punktwerten in den Angstskalen STAI 1 und STAI 2 steht (Assal, Alarcon et al. 2004; Pritchard, Pritchard et al. 2007).

Die Aussagekraft dieser psychometrischen Tests sollte jedoch kritisch betrachtet werden. Die in der VITA-Studie verwendeten Demenz- und Angsttests spiegeln nur den momentanen Zustand des Probanden wieder und lassen die psychische Verfassung der Vergangenheit nicht in das Ergebnis mit einfließen. Auch sollte erwähnt werden, dass Probanden mit einer diagnostizierten Demenz oft kognitive Probleme haben, die Fragen zu verstehen. Das Ergebnis kann so schnell fehlinterpretiert werden.

Die Untersuchungen der VITA-Studie belegen nicht die Hypothese, dass eine Assoziation zwischen dem 5-HTTLPR-Polymorphismus und einer Demenz besteht.

Da die Zahl der dementen Probanden in der Basisuntersuchung sehr klein und somit die Aussagekraft relativ gering ist, können vielleicht die Nachuntersuchungen der VITA-Studie mit größeren Probandenzahlen eindeutiger Ergebnisse bringen.

In der Literatur wird über die Assoziation zwischen dem 5-HTT Genotyp und der Demenz sehr kontrovers diskutiert. Einige Autoren können auf einen Zusammenhang zwischen dem 5-HTTLPR und einer Demenz hinweisen (Li, Holmes et al. 1997;

Oliveira, Gallindo et al. 1998; Hu, Retz et al. 2000). In diesen Studien konnte gezeigt werden, dass Probanden mit einer Demenz, signifikant häufiger Träger eines S-Alleles sind.

Weitaus mehr Studien jedoch widerlegen diese Assoziation und bestärken somit das Ergebnis der vorliegenden Arbeit (Kunugi, Ueki et al. 2000; Zill, Padberg et al. 2000; Tsai, Hong et al. 2001; Forero, Arboleda et al. 2006; Micheli, Bonvicini et al. 2006; Ueki, Ueno et al. 2007).

Studien, die über eine Abnahme an Serotonin im Frontal-und Tempollappen (D'Amato, Zweig et al. 1987) sowie im Plasma und den Thrombozyten (Kumar, Sevush et al. 1995) von dementen Probanden berichten, lassen sich demnach am ehesten auf eine Degeneration der serotonergen Neurone zurückführen als auf das vermutete kurze Allel des 5-HTTLPR. Diese Annahme trifft wohl auch für die Abnahme der Konzentration von 5-Hydroxyindolessigsäure im Liquor zu (Liu, Yang et al. 1991; Martignoni, Bono et al. 1991)

5. Ausblick

Die Basisuntersuchungen der VITA-Studie bestätigen die Hypothese, dass eine Assoziation zwischen dem 5-HTTLPR und einer Depression besteht. Ein Zusammenhang zwischen dem Längenpolymorphismus des 5-HTT-Genotyps und einer Demenz konnte jedoch nicht nachgewiesen werden.

Gerade die geringe Anzahl dementer Probanden schmälert die Aussagekraft der Ergebnisse und fordert eine Replikation an größeren Probandengruppen. Diese größeren Probandengruppen könnten in der 1. und 2. Nachuntersuchung erzielt werden. Geht man von einer hohen Zahl von Studienteilnehmer aus, die an den Nachuntersuchungen teilnehmen werden, steigt die Wahrscheinlichkeit, dass weitere Probanden bis zu diesem Zeitpunkt an einer Demenz erkrankt sein könnten. Mit dieser Wahrscheinlichkeit würden sich die Gruppen dementer Studienteilnehmer und somit auch die Chance vergrößern, eindeutige Ergebnisse hinsichtlich einer Assoziation zwischen dem 5-HTTLPR und einer Demenz erzielen zu können. Die Nachuntersuchungen werden also zeigen, ob sie die Ergebnisse der Basisuntersuchung bestärken oder widerlegen werden.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit stehen zwei Untersuchungen im Mittelpunkt.

In der ersten Untersuchung wurde analysiert, ob eine Assoziation zwischen dem 5-HTTLPR und einer Depression besteht. Die zweite Untersuchung wurde angesetzt, um einen möglichen Zusammenhang zwischen dem 5-HTTLPR und einer Demenz zu ermitteln.

Für diese Untersuchungen wurden 75-jährigen Probanden der VITA-Studie rekrutiert, die vom Ludwig Boltzmann Institut für Altersforschung in Wien ausgerichtet wurde. Die VITA-Studie hat die Ermittlung von Frühdiagnosen und Risikofaktoren von Demenz- und depressiven Erkrankungen alter Menschen zum Ziel. Für die zu untersuchende Assoziation zwischen dem 5-HTTLPR und einer Depression, ergab sich eine Probandengruppe aus 557 nicht-dementen Teilnehmern. Für die Untersuchung auf einen Zusammenhang zwischen dem 5-HTTLPR und einer Demenz, bildete sich eine Zahl aus 554 dementen und nicht-dementen Studienteilnehmern. Alle Probanden dieser Studie unterzogen sich verschiedenen Depressions-, Angst- und Demenztests. Die Diagnostik der Depression und der Demenz erfolgte nach DSM-IV. Für die Genotypisierung, die mittels einer Polymerase-Kettenreaktion erfolgte, wurde den Probanden ein Röhrchen EDTA-Blut abgenommen. Die Ergebnisse der Genotypisierung, der Testung und der Diagnostik wurden statistisch analysiert.

Die erste Untersuchung zeigt, dass Probanden mit einer Depression bei Befunderhebung und/oder in der Vergangenheit signifikant häufiger Träger eines S-Allels sind oder einen homozygoten SS-Genotyp haben. Erkrankten die Probanden erstmalig vor dem 65. Lebensjahr an einer Depression, so ist der SS-Genotyp und das S-Allel, wie auch bei der Gruppe der Minor-, Major- und Subsyndromalen Depression, häufiger vorhanden als bei der Kontrollgruppe, zeigen aber diesbezüglich keine Signifikanz.

Ein Zusammenhang zwischen dem 5-HTTLPR-Genotyp oder Allelträger und den erzielten Punktwerten in den Depression -und Angstskaalen, wird nicht gefunden.

Die zweite Untersuchung der VITA -Studie zeigt, dass kein bestimmter Genotyp oder Allelträger des 5-HTTLPR in einer Assoziation zu einer Demenz oder den Punktwerten in den Demenz- und Angstskaalen steht.

Abschließend kann festgehalten werden, dass Träger des kurzen Allels des 5-HTTLPR ein größeres Risiko besitzen, eine Depression zu entwickeln. Der Längenpolymorphismus des Serotonin-Transporters scheint nach diesen Untersuchungen für die Entstehung einer Demenzerkrankung nicht von Bedeutung zu sein.

7. Anhang

7. 1 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AD	Alle Demenzerkrankte
ApoE	Apolipoprotein-E
BASE	Berliner Altersstudie
CaM	Calmodulin
CaMKII	Ca ²⁺ -Calmodulin-abhängige Kinase
CDR	<i>Clinical Dementia Rating</i>
CRF	<i>Corticotropin releasing factor</i>
DAT	<i>Dementia of the Alzheimer Type</i>
DSM-IV	<i>Diagnosic and Statistical Manual of Mental Disorders</i>
FULD	<i>Fuld Object Memory Test</i>
GD	Gemischte Demenz
HAM	<i>Hamilton-Depressions Skala</i>
HHNR-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden- Achsenaktivierung
ICD-10	<i>International classification of diseases</i>
MAO	Monoaminoxidase
MW	Mittelwert
MMSE	<i>MiniMental State</i> -Untersuchung
NINCDS ADRDA	<i>National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association</i>
NINDS-AIREN	<i>Stroke-Association Internationale pur la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PKC	Proteinkinase C
5-HT	5-Hydroxytryptamin
5-HTT	5-Hydroxytryptamin-Transporter (Serotonin-Transporter)

5-HTTLPR	<i>Serotonin-transporter-linked promoter region</i>
SD	Standardabweichung
STAI	<i>State-Trait-Angstinventar</i>
SGDS	<i>Short Geriatric Depression-Skala</i>
Tab	Tabelle
VD	Vaskuläre Demenz
vMAT	vesikulärer unspezifischen Monoamintransporter
VITA	Vienna Transdanube Aging

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abb.1: Alterspyramide für Deutschland 2006 und 2050 im Vergleich (Statistisches Bundesamt 2004)

Abb.2: Serotonerge Neurone im Hirnstamm der adulten Ratte (nach Roley und Kelly 1991)

Abb.3: Synaptische Übertragung durch Serotonin (Quelle: Aktories, K., Förstermann, U. et al. (2005). Pharmakologie und Toxikologie)

Abb.4: Die 5-HTTLPR-Region (Canli and Lesch 2007)

Abb.5: Die kurze Allelform des 5-HTT-Promoters und seinen Einfluss auf die Psyche

Abb.6: Agarosegel mit Banden für den 5-HTTLPR-Genotyp. Bande 1: S/S-Genotyp, Bande 2: S/L-Genotyp, Bande 3: L/L-Genotyp (Lee et al 2002)

7.3 Tabellenverzeichnis

Tab.1: Hauptsymptome and Zusatzsymptome depressiver Episoden nach ICD-10

Tab.2: Prävalenzrate von Demenzen

Tab.3: Projektionsgebiete B1-B9 der serotonergen Zellgruppen und ihre korrespondierende anatomische Struktur nach Dahlstrom und Fuxe

Tab.4: Studienverlauf

Tab.5: Testergebnisse von MMSE, FULD, HAM, SGDS, STAI-1 und STAI-2 der nicht-dementen Probandengruppe (Gruppe I)

Tab.6: Gruppe II und die erzielten Punktwerte in den neuropsychologischen Tests MMSE, FULD, CDR, HAM, STAI 1 und STAI 2

Tab.7: Der 5-HTTLPR bei Probanden mit einer Depression in der Gegenwart und/oder Vergangenheit

Tab.8.: Mittelwerte (MW \pm SD) der Testergebnisse (HAM, SGDS, STAI 1+2) und die Genotyp- und Allelverteilung von Probanden mit Depressionen bei Befunderhebung während der Basisuntersuchung.

Tab.9: 5-HTTLPR Genotyp und Allelfrequenzen der Demenzgruppen im Vergleich mit gesunden Personen

Tab.10: Mittelwerte (MW \pm SD) der erzielten Punkte in den Demenz- und Angst-Tests (MMSE, FULD, CDR, Hamilton STAI 1 und STAI 2) und die Genotyp- und Allelverteilung der Kontroll- und Alzheimer Demenz-Gruppe

Tab.11: Mittelwerte (MW \pm SD) der erzielten Punkte in den Demenz- und Angst-Tests (MMSE, FULD, CDR, Hamilton STAI 1 und STAI 2) und die Genotyp- und Allelverteilung der Probanden mit einer gemischten oder vaskulären Demenz

Tab.12: Mittelwerte (MW \pm SD) der erzielten Punkte in den Demenz- und Angst-Tests (MMSE, FULD, CDR, Hamilton STAI 1 und STAI 2) (MW \pm SD) und die Genotyp- und Allelverteilung aller Demenzerkrankten.

8. Literaturverzeichnis

- Aktories, K., U. Förstermann, et al. (2005). *Pharmakologie und Toxikologie*. München, Urban & Fischer Verlag.
- Andersen, K., L. J. Launer, et al. (1999). "Gender differences in the incidence of AD and vascular dementia: The EURODEM Studies. EURODEM Incidence Research Group." *Neurology* 53(9): 1992-7.
- Arango, V., M. D. Underwood, et al. (2002). "Serotonin brain circuits involved in major depression and suicide." *Prog Brain Res* 136: 443-53.
- Asberg, M., L. Traskman, et al. (1976). "5-HIAA in the cerebrospinal fluid. A biochemical suicide predictor?" *Arch Gen Psychiatry* 33(10): 1193-7.
- Assal, F., M. Alarcon, et al. (2004). "Association of the serotonin transporter and receptor gene polymorphisms in neuropsychiatric symptoms in Alzheimer disease." *Arch Neurol* 61(8): 1249-53.
- Blakely, R. D., H. E. Berson, et al. (1991). "Cloning and expression of a functional serotonin transporter from rat brain." *Nature* 354(6348): 66-70.
- Blennow, K., A. Wallin, et al. (1992). "Significance of decreased lumbar CSF levels of HVA and 5-HIAA in Alzheimer's disease." *Neurobiol Aging* 13(1): 107-13.
- Bowen, D. M., C. B. Smith, et al. (1976). "Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies." *Brain* 99(3): 459-96.
- Canli, T. and K. P. Lesch (2007). "Long story short: the serotonin transporter in emotion regulation and social cognition." *Nat Neurosci* 10(9): 1103-9.
- Caspi, A., K. Sugden, et al. (2003). "Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene." *Science* 301(5631): 386-9.
- Collier, D. A., G. Stober, et al. (1996). "A novel functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene: possible role in susceptibility to affective disorders." *Mol Psychiatry* 1(6): 453-60.
- Copeland, J. R., A. T. Beekman, et al. (2004). "Depression among older people in Europe: the EURODEP studies." *World Psychiatry* 3(1): 45-9.
- Coppen, A. (1967). "The biochemistry of affective disorders." *Br J Psychiatry* 113(504): 1237-64.

- Corder, E. H., A. M. Saunders, et al. (1993). "Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families." *Science* 261(5123): 921-3.
- Cruts, M., I. Gijselinck, et al. (2006). "Null mutations in progranulin cause ubiquitin-positive frontotemporal dementia linked to chromosome 17q21." *Nature* 442(7105): 920-4.
- D'Amato, R. J., R. M. Zweig, et al. (1987). "Aminergic systems in Alzheimer's disease and Parkinson's disease." *Ann Neurol* 22(2): 229-36.
- Faraj, B. A., Z. L. Olkowski, et al. (1994). "Expression of a high-affinity serotonin transporter in human lymphocytes." *Int J Immunopharmacol* 16(7): 561-7.
- Feuerstein, T. J. and W. Seeger (1997). "Modulation of acetylcholine release in human cortical slices: possible implications for Alzheimer's disease." *Pharmacol Ther* 74(3): 333-47.
- Fischer, P., S. Jungwirth, et al. (2002). "Vienna Transdanube Aging "VITA": study design, recruitment strategies and level of participation." *J Neural Transm Suppl*(62): 105-16.
- Forero, D. A., G. Arboleda, et al. (2006). "Association study of polymorphisms in LRP1, tau and 5-HTT genes and Alzheimer's disease in a sample of Colombian patients." *J Neural Transm* 113(9): 1253-62.
- Fratiglioni, L., M. Viitanen, et al. (1997). "Very old women at highest risk of dementia and Alzheimer's disease: incidence data from the Kungsholmen Project, Stockholm." *Neurology* 48(1): 132-8.
- Fuld, P. A. (1980). "Guaranteed stimulus-processing in the evaluation of memory and learning." *Cortex* 16(2): 255-71.
- Gillespie, N. A., J. B. Whitfield, et al. (2005). "The relationship between stressful life events, the serotonin transporter (5-HTTLPR) genotype and major depression." *Psychol Med* 35(1): 101-11.
- Gomez-Gil, E., C. Gasto, et al. (2004). "Decrease of the platelet 5-HT_{2A} receptor function by long-term imipramine treatment in endogenous depression." *Hum Psychopharmacol* 19(4): 251-8.

- Grunblatt, E., C. Loffler, et al. (2006). "Association study of the 5-HTTLPR polymorphism and depression in 75-Year-Old nondemented subjects from the Vienna Transdanube Aging (VITA) study." *J Clin Psychiatry* 67(9): 1373-8.
- Grunblatt, E., R. Schlosser, et al. (2005). "Oxidative stress related markers in the "VITA" and the centenarian projects." *Neurobiol Aging* 26(4): 429-38.
- Halliday, G. M., H. L. McCann, et al. (1992). "Brain stem serotonin-synthesizing neurons in Alzheimer's disease: a clinicopathological correlation." *Acta Neuropathol* 84(6): 638-50.
- Hamilton, M. (1960). "A rating scale for depression." *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 23: 56-62.
- Heinz, A., D. W. Jones, et al. (2000). "A relationship between serotonin transporter genotype and in vivo protein expression and alcohol neurotoxicity." *Biol Psychiatry* 47(7): 643-9.
- Hranilovic, D., J. Stefulj, et al. (2003). "Serotonin transporter gene promoter (5-HTTLPR) and intron 2 (VNTR) polymorphisms in Croatian suicide victims." *Biol Psychiatry* 54(9): 884-9.
- Hu, M., W. Retz, et al. (2000). "Promoter polymorphism of the 5-HT transporter and Alzheimer's disease." *Neurosci Lett* 294(1): 63-5.
- Hughes, C. P., L. Berg, et al. (1982). "A new clinical scale for the staging of dementia." *Br J Psychiatry* 140: 566-72.
- in t' Veld, B. A., A. Ruitenberg, et al. (2001). "Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the risk of Alzheimer's disease." *N Engl J Med* 345(21): 1515-21.
- Iqbal, K., A. C. Alonso, et al. (1998). "Mechanisms of neurofibrillary degeneration and the formation of neurofibrillary tangles." *J Neural Transm Suppl* 53: 169-80.
- Jayanthi, L. D., S. Ramamoorthy, et al. (1994). "Calmodulin-dependent regulation of the catalytic function of the human serotonin transporter in placental choriocarcinoma cells." *J Biol Chem* 269(20): 14424-9.
- Kendler, K. S., J. W. Kuhn, et al. (2005). "The interaction of stressful life events and a serotonin transporter polymorphism in the prediction of episodes of major depression: a replication." *Arch Gen Psychiatry* 62(5): 529-35.
- Knoth, J., M. Zallakian, et al. (1981). "Stoichiometry of H⁺-linked dopamine transport in chromaffin granule ghosts." *Biochemistry* 20(23): 6625-9.

- Kukull, W. A., R. Higdon, et al. (2002). "Dementia and Alzheimer disease incidence: a prospective cohort study." *Arch Neurol* 59(11): 1737-46.
- Kumar, A. M., S. Sevush, et al. (1995). "Peripheral serotonin in Alzheimer's disease." *Neuropsychobiology* 32(1): 9-12.
- Kunugi, H., A. Ueki, et al. (2000). "Alzheimer's disease and 5-HTTLPR polymorphism of the serotonin transporter gene: no evidence for an association." *Am J Med Genet* 96(3): 307-9.
- Lenze, E. J., M. C. Munin, et al. (2005). "Association of the serotonin transporter gene-linked polymorphic region (5-HTTLPR) genotype with depression in elderly persons after hip fracture." *Am J Geriatr Psychiatry* 13(5): 428-32.
- Lesch, K. P., U. Balling, et al. (1994). "Organization of the human serotonin transporter gene." *J Neural Transm Gen Sect* 95(2): 157-62.
- Lesch, K. P., D. Bengel, et al. (1996). "Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region." *Science* 274(5292): 1527-31.
- Lesch, K. P., B. L. Wolozin, et al. (1993). "Isolation of a cDNA encoding the human brain serotonin transporter." *J Neural Transm Gen Sect* 91(1): 67-72.
- Lesch, K. P., B. L. Wolozin, et al. (1993). "Primary structure of the human platelet serotonin uptake site: identity with the brain serotonin transporter." *J Neurochem* 60(6): 2319-22.
- Letenneur, L., V. Gilleron, et al. (1999). "Are sex and educational level independent predictors of dementia and Alzheimer's disease? Incidence data from the PAQUID project." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 66(2): 177-83.
- Li, T., C. Holmes, et al. (1997). "Allelic functional variation of serotonin transporter expression is a susceptibility factor for late onset Alzheimer's disease." *Neuroreport* 8(3): 683-6.
- Linden, M., G. Kurtz, et al. (1998). "[Depression in the very elderly]." *Nervenarzt* 69(1): 27-37.
- Liu, H. C., J. C. Yang, et al. (1991). "Analysis of monoamines in the cerebrospinal fluid of Chinese patients with Alzheimer's disease." *Ann N Y Acad Sci* 640: 215-8.
- Madianos, M. G., G. Gournas, et al. (1992). "Depressive symptoms and depression among elderly people in Athens." *Acta Psychiatr Scand* 86(4): 320-6.

- Mann, J. J., Y. Y. Huang, et al. (2000). "A serotonin transporter gene promoter polymorphism (5-HTTLPR) and prefrontal cortical binding in major depression and suicide." *Arch Gen Psychiatry* 57(8): 729-38.
- Martignoni, E., G. Bono, et al. (1991). "Monoamines and related metabolite levels in the cerebrospinal fluid of patients with dementia of Alzheimer type. Influence of treatment with L-deprenyl." *J Neural Transm Park Dis Dement Sect* 3(1): 15-25.
- McDougall, F. A., K. Kvaal, et al. (2007). "Prevalence of depression in older people in England and Wales: the MRC CFA Study." *Psychol Med* 37(12): 1787-95.
- McDougall, F. A., F. E. Matthews, et al. (2007). "Prevalence and symptomatology of depression in older people living in institutions in England and Wales." *Age Ageing* 36(5): 562-8.
- McGeer, P. L. and E. G. McGeer (1995). "The inflammatory response system of brain: implications for therapy of Alzheimer and other neurodegenerative diseases." *Brain Res Brain Res Rev* 21(2): 195-218.
- McKhann, G., D. Drachman, et al. (1984). "Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease." *Neurology* 34(7): 939-44.
- Meller, I., M. M. Fichter, et al. (1997). "Risk factors and psychosocial consequences in depression of octo- and nonagenarians: results of an epidemiological study." *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 247(5): 278-87.
- Menza, M. A., B. Palermo, et al. (1999). "Depression and anxiety in Parkinson's disease: possible effect of genetic variation in the serotonin transporter." *J Geriatr Psychiatry Neurol* 12(2): 49-52.
- Micheli, D., C. Bonvicini, et al. (2006). "No evidence for allelic association of serotonin 2A receptor and transporter gene polymorphisms with depression in Alzheimer disease." *J Alzheimers Dis* 10(4): 371-8.
- Mossner, R., A. Henneberg, et al. (2001). "Allelic variation of serotonin transporter expression is associated with depression in Parkinson's disease." *Mol Psychiatry* 6(3): 350-2.
- Neve, R. L. and N. K. Robakis (1998). "Alzheimer's disease: a re-examination of the amyloid hypothesis." *Trends Neurosci* 21(1): 15-9.

- Norman, T. R., G. D. Burrows, et al. (1989). "Serotonin and panic disorders: a review of clinical studies." *Int J Clin Pharmacol Res* 9(2): 151-7.
- Oliveira, J. R., R. M. Gallindo, et al. (1998). "The short variant of the polymorphism within the promoter region of the serotonin transporter gene is a risk factor for late onset Alzheimer's disease." *Mol Psychiatry* 3(5): 438-41.
- Ott, A., M. M. Breteler, et al. (1995). "Prevalence of Alzheimer's disease and vascular dementia: association with education. The Rotterdam study." *Bmj* 310(6985): 970-3.
- Ott, A., M. M. Breteler, et al. (1998). "Incidence and risk of dementia. The Rotterdam Study." *Am J Epidemiol* 147(6): 574-80.
- Owens, M. J. and C. B. Nemeroff (1994). "Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter." *Clin Chem* 40(2): 288-95.
- Pritchard, A. L., C. W. Pritchard, et al. (2007). "Role of serotonin transporter polymorphisms in the behavioural and psychological symptoms in probable Alzheimer disease patients." *Dement Geriatr Cogn Disord* 24(3): 201-6.
- Qian, Y., A. Galli, et al. (1997). "Protein kinase C activation regulates human serotonin transporters in HEK-293 cells via altered cell surface expression." *J Neurosci* 17(1): 45-57.
- Qiu, C., D. De Ronchi, et al. (2007). "The epidemiology of the dementias: an update." *Curr Opin Psychiatry* 20(4): 380-5.
- Ramamoorthy, S., A. L. Bauman, et al. (1993). "Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization." *Proc Natl Acad Sci U S A* 90(6): 2542-6.
- Ramamoorthy, S., E. Giovanetti, et al. (1998). "Phosphorylation and regulation of antidepressant-sensitive serotonin transporters." *J Biol Chem* 273(4): 2458-66.
- Ressler, K. J. and C. B. Nemeroff (2000). "Role of serotonergic and noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders." *Depress Anxiety* 12 Suppl 1: 2-19.
- Roman, G. C., T. K. Tatemichi, et al. (1993). "Vascular dementia: diagnostic criteria for research studies. Report of the NINDS-AIREN International Workshop." *Neurology* 43(2): 250-60.

- Roses, A. D. and A. M. Saunders (1997). "Apolipoprotein E genotyping as a diagnostic adjunct for Alzheimer's disease." *Int Psychogeriatr* 9 Suppl 1: 277-88; discussion 317-21.
- Ruitenbergh, A., A. Ott, et al. (2001). "Incidence of dementia: does gender make a difference?" *Neurobiol Aging* 22(4): 575-80.
- Selkoe, D. J. (1994). "Alzheimer's disease: a central role for amyloid." *J Neuropathol Exp Neurol* 53(5): 438-47.
- Serretti, A., C. Cusin, et al. (1999). "Serotonin transporter gene (5-HTTLPR) is not associated with depressive symptomatology in mood disorders." *Mol Psychiatry* 4(3): 280-3.
- Spillantini, M. G. and M. Goedert (1998). "Tau protein pathology in neurodegenerative diseases." *Trends Neurosci* 21(10): 428-33.
- Strobel, A., G. Dreisbach, et al. (2007). "Genetic Variation of Serotonin Function and Cognitive Control." *J Cogn Neurosci*.
- Thomson, F. and M. Craighead (2007). "Innovative Approaches for the Treatment of Depression: Targeting the HPA Axis." *Neurochem Res*.
- Tsai, S. J., C. J. Hong, et al. (2001). "Association study for a functional serotonin transporter gene polymorphism and late-onset Alzheimer's disease for Chinese patients." *Neuropsychobiology* 44(1): 27-30.
- Tuomisto, J., E. Tukiainen, et al. (1979). "Decreased uptake of 5-hydroxytryptamine in blood platelets from patients with endogenous depression." *Psychopharmacology (Berl)* 65(2): 141-7.
- Ueki, A., H. Ueno, et al. (2007). "Serotonin Transporter Gene Polymorphism and BPSD in Mild Alzheimer's Disease." *J Alzheimers Dis* 12(3): 245-53.
- Urbina Torija, J. R., J. M. Flores Mayor, et al. (2007). "[Depressive symptoms in the elderly. Prevalence and associated factors]." *Gac Sanit* 21(1): 37-42.
- Van't Veer-Tazelaar, P. J., H. W. van Marwijk, et al. (2007). "Depression in old age (75+), the PIKO study." *J Affect Disord*.
- Willeit, M., N. Praschak-Rieder, et al. (2003). "A polymorphism (5-HTTLPR) in the serotonin transporter promoter gene is associated with DSM-IV depression subtypes in seasonal affective disorder." *Mol Psychiatry* 8(11): 942-6.

- Williams, R. B., D. A. Marchuk, et al. (2003). "Serotonin-related gene polymorphisms and central nervous system serotonin function." *Neuropsychopharmacology* 28(3): 533-41.
- Willis-Owen, S. A., M. G. Turri, et al. (2005). "The serotonin transporter length polymorphism, neuroticism, and depression: a comprehensive assessment of association." *Biol Psychiatry* 58(6): 451-6.
- Yesavage, J. A., T. L. Brink, et al. (1982). "Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report." *J Psychiatr Res.* 17(1): 37-49.
- Zalsman, G., Y. Y. Huang, et al. (2006). "Association of a triallelic serotonin transporter gene promoter region (5-HTTLPR) polymorphism with stressful life events and severity of depression." *Am J Psychiatry* 163(9): 1588-93.
- Zill, P., F. Padberg, et al. (2000). "Serotonin transporter (5-HTT) gene polymorphism in psychogeriatric patients." *Neurosci Lett* 284(1-2): 113-5.
- Zweig, R. M., C. A. Ross, et al. (1988). "The neuropathology of aminergic nuclei in Alzheimer's disease." *Ann Neurol* 24(2): 233-42.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Deckert danke ich für die Möglichkeit, an seiner Klinik dissertieren zu können.

Mein besonderer Dank geht an Herrn Prof. Dipl.- Ing. Dr. techn. Peter Riederer für die freundliche Überlassung des interessanten Themas und die Möglichkeit der Durchführung des experimentellen Teils dieser Arbeit im Labor der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität Würzburg. Ich danke auch für die abschließende Durchsicht meiner Dissertation.

Herrn Prof. Dr. med. Andreas Reif danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Ganz herzlich möchte ich mich bei Frau Priv.-Doz. Dr. Grünblatt für die hervorragende wissenschaftliche und menschliche Betreuung bedanken. Sie stand mir immer mit großem Engagement und fachlicher Kompetenz verlässlich zur Seite.

Großer Dank geht auch an Miryam Hofmann, die mir jederzeit wertvolle Hilfestellung beim Erlernen der notwendigen praktischen Fähigkeiten gab und immer ein offenes Ohr für mich hatte.

Ich danke auch allen Mitarbeitern des neurochemischen und klinischen Labors der Universitäts-Nervenlinik für das gute Arbeitsklima und die stets freundliche Unterstützung bei der Ausführung der Versuche.

Meine besondere Dankbarkeit gilt meinen Eltern, die mir dieses Studium und die Promotion ermöglicht haben und mir jederzeit sowie in jeder Hinsicht zur Seite gestanden sind.

Publikationsverzeichnis

Gruenblatt E, Loeffler C, Zehetmayer S, Jungwirth S, Tragl KH, Riederer P, Fischer P (2006): Association study of the 5-HTTLPR polymorphism and depression in non-demented subjects of age 75 from the VITA study.

Grünblatt E, Zehetmayer S, Bartl J, Löffler C, Wichart I, Rainer MK, Jungwirth S, Baer P, Danielczyk W, Tragl KH, and Riederer P, Fischer P. (2009): Genetic risk factors and markers for Alzheimer's disease and/or depression in the VITA study.